



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“Relación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de *Jungia rugosa* Less en extractos metanólicos y de diclorometano.”**

**Tesis previa a la obtención del título de**

**Bioquímica Farmacéutica**

**AUTORAS:**

**Liz Natalia Cambizaca Heredia**

**Carmen Maribel Bermeo Guerrero**

**DIRECTORA:**

**Dra. María Isabel Wilches Arizábala Ms.C.**

**CUENCA - ECUADOR**

**2015**



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

## **RESUMEN**

Las especies reactivas de oxígeno (ERO), entre otros radicales pueden generar estrés oxidativo, fenómeno al cual se le atribuyen muchas enfermedades neurodegenerativas. Se ha evidenciado que las plantas y sus constituyentes son fuente de antioxidantes; por tanto, tienen la capacidad de capturar EROs.

En este trabajo se evaluó la actividad antioxidante de extractos de hojas de *Jungia rugosa* Less mediante las técnicas de DPPH y poder reductor, en la determinación de compuestos fenólicos se aplicó la técnica de Folin Ciolcateau. Además, se determinó la composición fitoquímica mediante el perfil cromatográfico empleando como método cromatografía de capa fina (TLC). Los resultados obtenidos evidenciaron la presencia de flavonoides de tipo flavonoles y flavonas, cumarinas, terpenoides y posiblemente saponinas.

En el análisis de la actividad antioxidante se emplearon dos técnicas: la reducción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y el poder reductor, para lo cual se trabajó con ácido ascórbico como estándar obteniéndose un valor de  $IC_{50}$  de 2,90  $\mu\text{g/ml}$  en la técnica de DPPH y 4,71  $\mu\text{g/ml}$  para la técnica del poder reductor.

En la técnica del DPPH el valor de  $IC_{50}$  de los extractos metanólicos de *Jungia rugosa* Less se encontró en un rango de 31,45 – 80,25  $\mu\text{g/ml}$  y en diclorometano entre 128,54- 262,13  $\mu\text{g/ml}$ .

En el desarrollo de la técnica del poder reductor, el  $IC_{50}$  de los extractos metanólicos varía entre un rango de 33,33 -166,63  $\mu\text{g/ml}$  y en los extractos de diclorometano entre 49,99-124,95  $\mu\text{g/ml}$ .



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

En la determinación de los compuestos fenólicos mediante la técnica de Folin Ciolcateau se obtuvieron concentraciones entre 0,81- 3,39 mg/ml en los extractos metanólicos, respecto a los extractos de diclorometano no se pudo aplicar la técnica debido a la formación de un precipitado.

**Palabras claves:** *Jungia rugosa* Less, DPHH, poder reductor, Folin Ciolcateau.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## ABSTRACT

Reactive oxygen species (ROS), including radicals can generate oxidative stress, a phenomenon which is attributed many neurodegenerative diseases. It has been shown that plants and their constituents are a source of antioxidants; thus they have the capacity to capture EROS.

In this paper the antioxidant activity of extracts from leaves rough Less Jungia was evaluated by DPPH techniques and reducing power in the determination of phenolic compounds Ciolcateau Folin technique was applied. Furthermore, the phytochemical composition was determined using chromatographic fingerprint method as chromatography and thin layer (TLC). The results obtained showed the presence of flavonoid type flavonols and flavones, coumarins, possibly terpenoid saponins.

In the analysis of antioxidant activity two techniques were used: the reduction of 1-2,2-diphenyl picrilhidrazilo radical (DPPH) and the reducing power, for which worked with ascorbic acid as standard a value of  $IC_{50}$  obtained 2,90 ug / ml in the method of DPPH and 4.71 ug / ml for the technique of reducing power.

In the technique of DPPH  $IC_{50}$  value of the methanol extracts of rough Less Jungia he was found in a range of 31.45 -80.25 ug/ml and dichloromethane between 128,54- 262.13 ug/ml. In developing the technique of reducing power,  $IC_{50}$  of methanol extracts it varies between a range of 33.33 -166.63 mg / ml and dichloromethane extracts from 11.47 -21.74 mg / ml.

In determining the phenolic compounds by the technique of Folin Ciolcateau concentrations between 0,81-3.39 mg / ml were obtained in the methanol extract, with regard to the dichloromethane extracts could not be evaluated because of incompatibility with the reagent employee.

**Key words:** Jungia *rugosa* Less, DPHH, reducing power, Folin Ciolcateau.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	2
ABSTRACT .....	4
ÍNDICE GENERAL .....	5
ÍNDICE DE FIGURAS.....	10
ÍNDICE DE TABLAS.....	11
ÍNDICE DE ANEXOS.....	13
AGRADECIMIENTOS.....	18
DEDICATORIA .....	19
INTRODUCCIÓN.....	21
CAPÍTULO I.....	23
MARCO TEÓRICO .....	23
1.1 Jungia rugosa Less. ....	23
1.1.1 Taxonomía.....	23
1.1.2 Generalidades .....	23
1.1.3 Características botánicas.....	24
1.2 METABOLISMO VEGETAL.....	24
1.2.1 METABOLITOS SECUNDARIOS DE LAS PLANTAS.....	25
1.2.2 RUTAS METABÓLICAS DE LAS PLANTAS.....	27
1.2.3 DIVISIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS .....	28
1.2.3.1 TERPENOS.....	28
1.2.3.1.1 Aceites esenciales .....	29
1.2.3.1.2 Saponinas.....	29
1.2.3.2 COMPUESTOS FENÓLICOS .....	29
1.2.3.2.1 Cumarinas .....	29
1.2.3.2.2 Flavonoides .....	30



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.2.3.2.3 Taninos .....	31
1.2.3.3 ALCALOIDES .....	31
1.3 OXIDACIÓN .....	31
1.3.1 DEFINICIÓN .....	31
1.3.2 RADICALES LIBRES .....	32
1.3.3 SISTEMAS DE DEFENSA ANTIOXIDANTE .....	34
1.3.3.1 Flavonoides .....	36
1.3.3.1.1 Mecanismos antioxidantes de los flavonoides .....	38
1.3.3.2 Carotenoides .....	38
1.3.3.3 Vitamina C .....	39
1.3.3.4 Vitamina E .....	39
1.4 MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....	40
1.4.1 DPPH ENSAYO DE LA CAPACIDAD DE CAPTACIÓN DE RADICALES ...	41
1.4.1.1 Fundamento .....	41
1.4.2 TÉCNICA DEL PODER REDUCTOR (FERRICIANURO DE POTASIO) .....	42
1.4.2.1 Fundamento .....	42
1.4.3 EVALUACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR LA TÉCNICA DE FOLIN CIOLCATEAU. ....	43
1.4.3.1 Fundamento .....	43
1.4.4 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (THIN LAYER CHROMATOGRAPHY- TLC) .....	43
1.4.4.1 Fundamento .....	43
CAPÍTULO II .....	45
MATERIALES .....	45
2.1 ANÁLISIS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (THIN LAYER CHROMATOGRAPHY (TLC)). ....	45
2.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....	48



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.2.1 Evaluación de la actividad antioxidante por la técnica del DPPH (2,2 DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL) .....	48
2.2.1.1 Preparación de la solución de DPPH 0,06 Mm .....	49
2.2.1.2. Preparación de la solución madre de ácido ascórbico de concentración 100 µg/ml .....	50
2.2.2 Evaluación de la actividad antioxidante por el método del Poder Reductor (TECNICA OYAIU). .....	50
2.2.2.1 Preparación de reactivos .....	52
2.2.2.1.1 Preparación de buffer de fosfato 0.2M pH 6.6 .....	52
2.2.2.1.2 Preparación de la solución de ferricianuro de potasio 1%(%w/v) ...	53
2.2.2.1.3 Preparación de la solución de ácido tricloroacético 10 %(%w/v). ...	53
2.2.2.1.4 Preparación de la solución de cloruro férrico 0,1%. .....	53
2.3 EVALUACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR LA TÉCNICA DE FOLIN CIOLCATEAU. ....	53
2.3.1 Preparación del reactivo de Folin Ciolcateau. ....	55
CAPÍTULO III.....	56
MÉTODOS .....	56
3.1 ANÁLISIS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (THIN LAYER CHROMATOGRAPHY-TLC) .....	56
3.1.1 Preparación de las placas para TLC .....	56
3.1.1.1 Aplicación de la muestra.....	56
3.1.1.2 Elución sobre la placa. ....	56
3.1.1.3 Revelado postcromatográfico. ....	57
3.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....	58
3.2.1 Evaluación de la actividad antioxidante según la técnica 2,2- Difenil-1- picril- hidrazilo (DPPH). ....	58
3.2.1.1. Preparación de la curva de calibración de Ácido Ascórbico.....	59



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.2.1.2 Procedimiento para la determinación de la actividad antioxidante de los extractos mediante la técnica del DPPH.....	60
3.2.1.2.1 Preparación de la solución madre de extracto de concentración de 200 ug/ml.....	60
3.2.1.2.2 Preparación de las soluciones diluidas de extracto. ....	60
3.2.2 Evaluación de la actividad antioxidante según la técnica de poder reductor férrico. ....	62
3.2.2.1 Elaboración de las curvas de calibración.....	62
3.2.2.2 Preparación de la solución madre de extracto de concentración de 200 ug/ml.....	63
3.3 EVALUACION DE FENOLES TOTALES SEGÚN LA TECNICA DE FOLIN-CIOLCATEAU .....	65
3.3.1 Elaboración de las curvas de calibración .....	65
3.3.2 Aplicación del método de Folin Ciolcateau en los extractos de concentración (2µg/ml). ....	66
CAPÍTULO IV .....	67
RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....	67
4.1 Resultados de la cromatografía en capa fina (TLC).....	67
4.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....	70
4.2.1 Evaluación de la actividad antioxidante según la técnica 2,2- Difenil-1- picril-hidrazilo (DPPH). ....	70
4.2.1.1 Curvas de calibración .....	70
4.2.1.2 Cuantificación de la actividad antioxidante en los extractos metanólicos y de diclorometano de <i>Jungia rugosa</i> Less. ....	73
4.2.2 Evaluación de la actividad antioxidante según la técnica del poder reductor (Oyaizú).....	75
4.2.2.1 Curvas de calibración .....	75
4.2.2.2 Cuantificación de la actividad antioxidante en los extractos metanólicos y de diclorometano de <i>Jungia rugosa</i> Less. ....	77





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

4.3 Cuantificación de los compuestos fenólicos mediante la técnica de Folin-Ciocalteu. ....	79
CAPÍTULO V .....	82
5. CONCLUSIONES .....	82
CAPITULO VI .....	84
6. RECOMENDACIONES .....	84
BIBLIOGRAFÍA: .....	85
ANEXOS .....	90



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1.1. Jungia rugosa Less (Santa Cruz, 2007). .....	24
Figura 1.2. Elementos básicos del metabolismo primario con el metabolismo secundario de las plantas (Avalos García & Pérez-Urria Carril, 2011). .....	26
Figura 1.3 Origen de metabolitos secundarios (alcaloides, fenilpropanoides y terpenos) en el metabolismo primario (Avalos García & Pérez-Urria Carril, 2011). .....	27
Figura 1.4. Estructura básica de los flavonoides (Martínez-Flórez, González-Gallego, Culebras, & others, 2002). .....	30
Figura 1.5. Subclases de flavonoides (Pérez Trueba, 2003). .....	37
Figura 1.6. Estructura de la vitamina C (Martínez, 2003). .....	39
Figura 1.7. Estructura de la vitamina E (Martínez, 2003). .....	40
Figura 1.8. Reacción química entre el radical DPPH y la especie antioxidante (Tovar, 2013). .....	42
Figura 4. 1. Fotografía del cromatograma bajo UV 366 para análisis de flavonoides y cumarinas. ....	68
Figura 4. 2. Fotografía del cromatograma para análisis de compuestos fenólicos. ....	69
Figura 4. 3. Fotografía del cromatograma usando filtro UV 366 para análisis de Terpenoides. ....	69
Figura 4. 4. Fotografía del cromatograma en filtro UV 366 de Saponinas. ....	70
Figura 4. 5. Curva de calibración de ácido ascórbico mediante la técnica del DPPH. .	72
Figura 4. 6. Curva de calibración de ácido ascórbico mediante la técnica del poder reductor (Oyaizú). .....	76



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

## **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Compuestos generados del metabolismo primario y secundario (Kuklinski, 1999). .....	25
Tabla 2. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción (Montero, 2014). .....	35
Tabla 3. Clasificación de los antioxidantes, según origen (Montero, 2014). .....	36
Tabla 4. Clasificación de los ensayos según su modo de reacción (Pérez, Vargas, Martínez, García, & Hernández, 2003). .....	41
Tabla 5. Especificaciones del DPPH (Sigma Aldrich, 2015). .....	49
Tabla 6. Especificaciones del ácido ascórbico (Sigma Aldrich, 2015). .....	50
Tabla 7. Preparación de los estándares de ácido caféico. ....	55
Tabla 8. Detección de metabolitos en el revelado postcromatográfico (Wagner, 2009). .....	57
Tabla 9. Curva de calibración técnica DPPH. ....	59
Tabla 10. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos vegetales.....	60
Tabla 11. Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante de extractos mediante la técnica del poder reductor del ferricianuro.....	63
Tabla 12. Determinación de la actividad antioxidante de extractos vegetales mediante la técnica del poder reductor del ferricianuro. ....	64
Tabla 13. Elaboración de curva de calibración de ácido caféico. ....	65
Tabla 14. Método Folin Ciolcateau en extractos metanólicos.....	66
Tabla 15. Actividad antioxidante del ácido ascórbico mediante la técnica del DPPH ..	71
Tabla 16. ANOVA inter-día e intra-día de las curvas de calibración de ácido ascórbico-método DPPH.....	73
Tabla 17. Valores de IC <sub>50</sub> de extractos analizados por el método DPPH. ....	74
Tabla 18. Actividad antioxidante del ácido ascórbico mediante la técnica de poder reductor. ....	75
Tabla 19. ANOVA inter-día e intra-día de las curvas de calibración de ácido ascórbico-método poder reductor (Oyaizú). ....	76



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 20. Valores de $IC_{50}$ de los extractos de metanólicos y de diclorometano de <i>Jungia rugosa</i> Less por el método de Poder reductor del ferricianuro.....	78
Tabla 21. Resultados de la técnica de Folin-Ciocalteu en extractos metanólicos de <i>Jungia rugosa</i> Less.....	79
Tabla 22. Regresión lineal entre la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos. .....	80



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

ANEXO A: Marcha fitoquímica para cromatografía de capa fina.....	91
ANEXO B: Curvas de calibración del ácido ascórbico por el método del DPPH.....	97
ANEXO C: Curvas de calibración del ácido ascórbico por el método del Poder Reductor.....	103
ANEXO D: Curvas de calibración del ácido caféico por el método de Folin-Ciocalteu.....	107
ANEXO E: Resultados de la actividad antioxidante de extractos metanólicos por el método del DPPH.....	119
ANEXO F: Resultados de la actividad antioxidante de extractos metanólicos por el método del DPPH.....	131
ANEXO G Resultados de la actividad antioxidante de extractos metanólicos por el método del Poder Reductor.....	143
ANEXO H: Resultados de la actividad antioxidante de extractos diclorometano por el método del Poder Reductor.....	155
ANEXO I: Resultados de compuestos fenólicos totales de extractos metanólicos mediante la técnica de Folin Ciolcateau.....	159



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### Cláusula de propiedad intelectual

Yo, Carmen Maribel Bermeo Guerrero, autora de la tesis **"Relación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de *Jungia rugosa* Less en extractos metanólicos y de diclorometano"**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 04 de enero de 2016

Carmen Maribel Bermeo Guerrero

C.I: 0105199509



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### Cláusula de derechos de autor

Yo, Carmen Maribel Bermeo Guerrero, autora de la tesis **"Relación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de *Jungia rugosa* Less en extractos metanólicos y de diclorometano"**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art.5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímica Farmacéutica. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 04 de enero de 2016

Carmen Maribel Bermeo Guerrero

C.I: 0105199509



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### Cláusula de propiedad intelectual

Yo, Liz Natalia Cambizaca Heredia, autora de la tesis **"Relación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de *Jungia rugosa* Less en extractos metanólicos y de diclorometano"**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 04 de enero de 2016

Liz Natalia Cambizaca Heredia

C.I: 0105789911





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### Cláusula de derechos de autor

Yo, Liz Natalia Cambizaca Heredia, autora de la tesis **“Relación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de *Jungia rugosa* Less en extractos metanólicos y de diclorometano”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art.5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímica Farmacéutica. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 04 de enero de 2016

Liz Natalia Cambizaca Heredia

C.I: 0105789911



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al concluir la presente investigación con la cual damos término a nuestro objetivo trazado es inevitable agradecer a quienes contribuyeron en este arduo caminar, ante todo nuestro primer e infinito agradecimiento a Dios por ser nuestra fortaleza y pilar fundamental en nuestras vidas permitiéndonos ser perseverantes con las metas planteadas.

De manera muy especial un agradecimiento a la Dra. Isabel Wilches nuestra directora de tesis, quien con sus conocimientos, orientaciones, persistencia, paciencia y motivación ha sido fundamental para nuestra formación como investigadores; gracias a su compromiso y dedicación se logró finalizar nuestro proyecto de tesis con éxito.

Queremos hacer extensiva nuestra gratitud a todo el equipo de trabajo que conforma el proyecto VLIR de Plantas Medicinales, de manera especial al Dr. Fabián León, la Dra. Nancy Cuzco, Dra. Mariana Saá, Bqf. Jéssica Calle, Bqf. Fernando Huiracocha, por su colaboración durante el desarrollo de este proyecto sin los cuales la ejecución del mismo no hubiese sido posible y a la Dra. Jhoana Ortiz por su valiosa ayuda en el análisis estadístico de nuestro trabajo.

A nuestra familia, no ha sido sencillo el camino hasta ahora, pero gracias a sus aportes, a su amor, a su inmensa bondad y apoyo lo complicado de lograr esta meta se ha notado menos.

Les agradecemos inmensamente y hacemos presente nuestro gran afecto hacia ustedes.

Muchas gracias!

Maribel y Liz



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

## **DEDICATORIA**

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado la fortaleza para continuar en los momentos más difíciles de mi vida, por ello con toda la humildad dedico primeramente mi tesis a Dios, por concederme la salud, sabiduría, paciencia y perseverancia durante este largo caminar.

A mi pequeño ángel, mi amado hijo Nicolás por ser mi principal motivación e inspiración de superación cada día, con él que compartí cada etapa de mi vida universitaria, que supo comprenderme y sobre todo con su amor darme la fuerza para concluir esta meta tan anhelada. Este triunfo no es mío sino tuyo hijo, tú que con tu gran corazón llenas de felicidad mi vida.

A mi esposo John que ha sido el impulso durante toda mi carrera y el pilar principal para la culminación de la misma que con su apoyo constante y amor ha sido mi amigo y compañero inseparable en todo momento.

A mis padres Marcelo y Olga que con sus consejos y apoyo incondicional han hecho de mí una persona con virtudes y valores los mismos que me han permitido culminar mi carrera profesional.

A mis hermanos German, Cinthia y Kenia quienes con sus palabras de aliento siempre me apoyaron para alcanzar mis metas.

A mi amiga Maribel por el esfuerzo y la dedicación de cada día, lo que nos ha permitido superar cada travesía a lo largo de este proyecto, sin embargo hemos logrado cumplir nuestra meta.

Liz Natalia



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

El presente trabajo está dedicado a personas especiales que me han acompañado a lo largo de este caminar apoyándome y dando lo mejor de sí para que continúe progresando.

A Dios, mi guía espiritual, el pilar de mis propósitos y metas, me permitiste sonreír ante mis logros que son resultado de tu bendición y cuando he caído sé que me pones a prueba para aprender de mis errores, levantarme y continuar de tu mano.

A Juan Matías y Alejandro por ser el motor que me impulsa a seguir cada día, a tratar de ser mejor, por ser mi inspiración, por ellos y para ellos están dedicados todos mis logros, son mis más preciados tesoros.

A Juan Pablo, por su amor, apoyo, paciencia y compañía, gracias por creer en mí y alegrar mi vida cada momento.

A Bertha, mi mami quien a pesar de los inconvenientes ha sabido salir adelante con nosotros siendo ejemplo de fortaleza, lucha y dedicación, por formarme con buenos sentimientos valores y hábitos lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles.

A Amelia, mi abuelita quien contribuyo con su amor tan sincero a ser una persona de bien y una mujer de lucha, sin su presencia en mi vida no sabría lo que es perseguir mis sueños y saber que un tropiezo no es caída, donde este mamita sé que esto es parte de sus bendiciones.

A Johanna, Andrés y Anthony, mis hermanos quienes con su continuo aliento y apoyo no me han permitido rendir. Los quiero mucho!

A Liz, mi amigocha y compañera de malas noches, gracias por acompañarme a lo largo de esta travesía, por compartir tantos buenos y malos momentos que nos ayudaron a llegar a nuestro objetivo.

Finalmente agradezco a cada uno de los profesionales que han conformado parte de mi formación académica a lo largo de estos años, mostrándome que lo más importante es servir.

Maribel



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés en la investigación de antioxidantes naturales, y en esta incesante búsqueda, las plantas han constituido una fuente inagotable de exploración, por la presencia de metabolitos como los compuestos fenólicos, especialmente flavonoides a quienes se les atribuye actividad antioxidante.

Actualmente los antioxidantes han llegado a ser considerados como moléculas relacionadas directamente con la salud por su capacidad de capturar a los radicales libres los cuales están asociados con una serie de patologías que afectan masivamente a la población.

El avance en la búsqueda de ensayos capaces de investigar los principios activos de los extractos vegetales y con ello analizar sus propiedades farmacológicas, ha constituido un punto de interés para la ciencia, ya que estos pueden ser los precursores de una gama de productos con actividad benéfica para la conservación de la salud.

El Ecuador en su región andina presenta una gran variedad de plantas con propiedades farmacológicas poco o nada estudiadas, siendo empleadas de manera empírica por los nativos de la zona como es el caso de la *Jungia rugosa* Less, la presente investigación tiene como finalidad determinar la actividad antioxidante a partir de dos ensayos DPPH y poder reductor y a la vez cuantificar los compuestos fenólicos mediante la técnica de Folin Ciolcateau.

Para la presente investigación se planteó la siguiente hipótesis:

Existe relación entre la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en los extractos metanólicos y de diclorometano de *Jungia rugosa* Less.

Para probar la hipótesis se plantearon los siguientes objetivos:

### Objetivo General

- Determinar la actividad antioxidante y relacionar con el contenido de compuestos fenólicos totales de los extractos de *Jungia rugosa* Less (metanólico y diclorometano) mediante las técnicas de DPPH y del Poder Reductor de Ferricianuro.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### Objetivos Específicos

- Determinar el contenido de fenoles totales en los extractos metanólico y de diclorometano mediante la técnica de Folin-ciocalteu.
- Validar la curva de calibración que representa los resultados de cada una de las técnicas empleadas.
- Determinar la composición de los extractos utilizando cromatografía de capa fina (TLC).

En cuanto a la relación de la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos podemos establecer que no existe una relación significativa debido a la influencia de ciertos factores durante el desarrollo de las técnicas, atribuyendo la actividad antioxidante de los extractos a otros metabolitos secundarios como los terpenoides y saponinas los cuales no fueron cuantificados en nuestro análisis pero se corroboró su presencia cualitativamente mediante cromatografía de capa fina (TLC).

La técnica de DPPH utiliza 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo que es un radical libre que mantiene un electrón no apareado susceptible de reaccionar con compuestos antioxidantes a través de un proceso de cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante que en nuestro caso se encuentra en la muestra.

Los resultados experimentales se expresan en valores de IC50 es decir la concentración de la muestra problema que produce la inhibición del 50 % del radical libre DPPH.

La técnica de poder reductor (Oyaizú) valora la capacidad de donación de electrones por parte del ferricianuro de potasio los cuales van a reaccionar con la molécula antioxidante contenida en la muestra, esta molécula obtenida reacciona con el cloruro férrico produciéndose una coloración verde esmeralda la cual es proporcional a la concentración de la actividad antioxidante.

En ambos casos la valoración de la actividad antioxidante está dada por compuestos hidrosolubles como lo son los compuestos fenólicos (flavonas, flavonoles, cumarinas), saponinas, terpenoides, taninos, etc, dejando de lado los compuestos de tipo lipídico como lo son los carotenoides, tocoferoles y tocotrienoles, es por eso que podemos justificar la no relación entre actividad antioxidante frente a compuestos fenólicos.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## CAPÍTULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1.1 *Jungia rugosa* Less.

##### 1.1.1 Taxonomía

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Jungia*

Especie: *Jungia rugosa* (Ceron, 2010).

##### 1.1.2 Generalidades

En la región andina de nuestro país existe una diversidad de especies vegetales las cuales cuentan con principios activos potencialmente beneficiosos para la salud. Dentro de ellas se encuentra *Jungia rugosa* Less una especie que pertenece a la familia de las Asteráceas, se encuentra distribuida en las zonas altoandinas de Bolivia, Perú y Ecuador (Enciso & Arroyo, 2011).

*Jungia rugosa* Less es conocida en nuestro medio como “carne humana”, la cual ha sido utilizada ancestralmente para tratar lesiones de la piel por sus propiedades antiinflamatoria y cicatrizante (Cazar, 2012).



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 1.1.3 Características botánicas

La especie *Jungia rugosa* Less se caracteriza por constituir un arbusto de la familia de las asteráceas, crece en altitudes entre 2900 a 3800 metros sobre el nivel del mar, es resistente a las heladas y fuertes temporadas de invierno (Campoverde Lupercio & Verdugo Pillaga, 2008).

Arbustos trepadores, hojas simples, con peciolo de 4-5 cm, lámina coriácea, orbicular, marginalmente lobulada, base cordada, ápice con lóbulo agudo. Capítulos cortamente pedicelados, involucro campanulado, filarias 2-seriadas. Flores homógamas, numerosas, bilabiadas, blanco-moradas (Santa Cruz, 2007).



Figura1.1. *Jungia rugosa* Less (Santa Cruz, 2007).

### 1.2 METABOLISMO VEGETAL

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples. Los organismos vegetales, además de las rutas del metabolismo primario presente en todos los seres vivos y que se consideran fundamentales para la sobrevivencia, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos característicos de un grupo taxonómico y que son fuente principal de compuestos bioactivos.





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Los metabolitos secundarios, difieren también de los metabolitos primarios en que ciertos grupos presentan una distribución restringida en el reino vegetal, es decir, no todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas (Avalos García & Pérez-Urria Carril, 2011).

Los compuestos que se hallan presentes en el vegetal pueden proceder del metabolismo primario o del metabolismo secundario de la planta.

Compuestos del metabolismo primario	Compuestos del metabolismo secundario
Glúcidos	Isoprenoides: terpenos, aceites esenciales, saponinas, cardiotónicos.
Lípidos y ceras vegetales	Derivados fenólicos: 1. Shikimatos: fenoles y ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos, flavonoides, antocianinas, taninos. 2. Acetatos: quinonas, antracenósidos.
Aminoácidos y proteínas	Alcaloides.
Ácidos nucleicos	
Compuestos nitrogenados: glucósidos cianogenéticos, glucosinolatos, enzimas.	

**Tabla 1. Compuestos generados del metabolismo primario y secundario (Kuklinski, 1999).**

### 1.2.1 METABOLITOS SECUNDARIOS DE LAS PLANTAS

El metabolismo secundario implica la síntesis de moléculas que no son esenciales para la estructura celular y el crecimiento. Los metabolitos secundarios son compuestos vegetales que no tienen una función directa en el crecimiento y desarrollo vegetal, pero que pueden proporcionar función

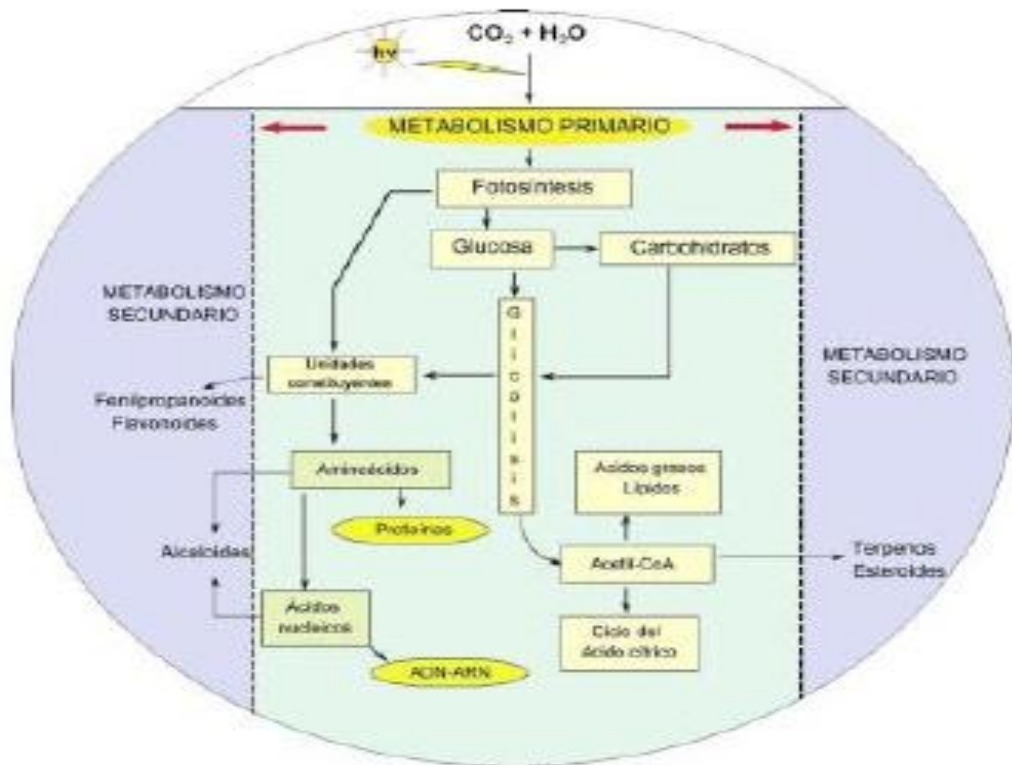


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

protectora frente a predadores, actuando, como repelentes, proporcionando a la planta sabores amargos, haciéndolas indigestas o venenosas.

Algunos productos del metabolismo secundario son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos. También intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a diferentes patógenos, actuando como pesticidas naturales (Almaraz, 2003).

A partir del metabolismo secundario se originan una serie de componentes denominados principios activos, con aplicaciones en el campo de la medicina, industria aromática e industria alimentaria.



**Figura 1.2. Elementos básicos del metabolismo primario con el metabolismo secundario de las plantas (Avalos García & Pérez-Urria Carril, 2011).**



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## 1.2.2 RUTAS METABÓLICAS DE LAS PLANTAS

Paralelamente los compuestos primarios: aminoácidos, carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos, ácidos carboxílicos y a través de las mismas o similares vías de biosíntesis, se originan otro tipo de compuestos que por sus características particulares y específicas se denominan, compuestos o metabolitos secundarios (Almaraz, 2003).

En el conjunto de los vegetales se pueden diferenciar tres rutas biosintéticas que dan lugar a los metabolitos secundarios:

1. Ruta del ácido shikímico: precursor de muchos compuestos aromáticos, incluyendo los aminoácidos aromáticos, los ácidos cinámicos y ciertos polifenoles.
2. Ruta del acetato – malonato (ruta de los policétidos).
3. Ruta del acetato –mevalonato (ruta del ácido mevalónico).

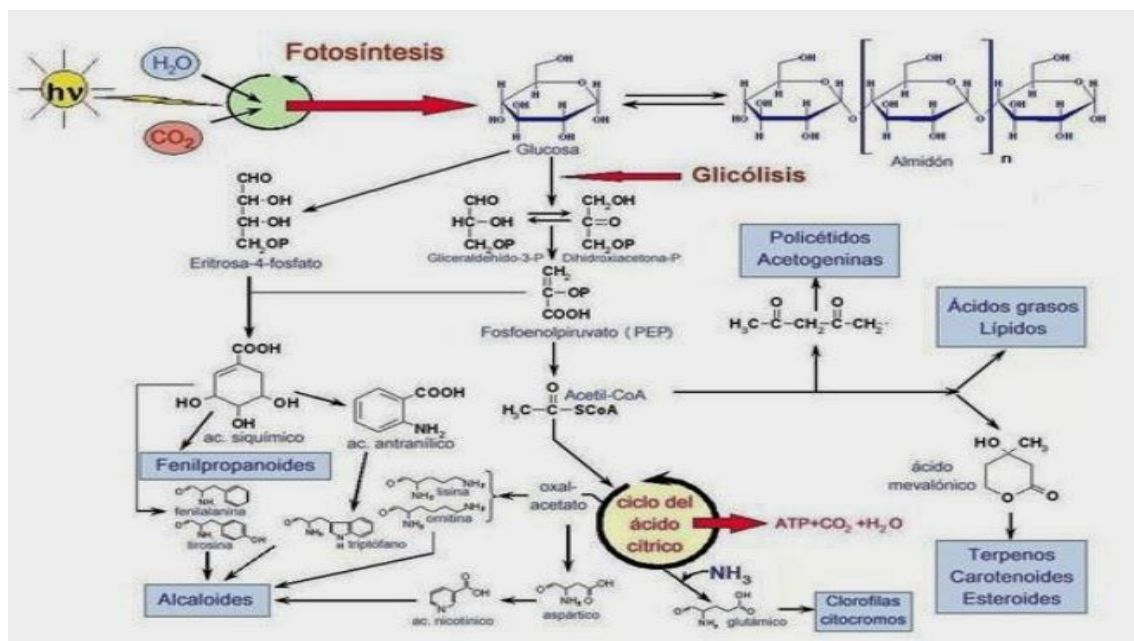


Figura 1.3 Origen de metabolitos secundarios (alcaloides, fenilpropanoides y terpenos) en el metabolismo primario (Avalos García & Pérez-Urria Carril, 2011).



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Es importante señalar que las reacciones biológicas que están involucradas con la síntesis de los metabolitos primarios y secundarios, están catalizadas por multitud de enzimas diferentes (Kuklinski, 1999).

### 1.2.3 DIVISIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS

Se producen tres clases principales de metabolitos secundarios en las plantas:

- **Terpenos o terpenoides:** Entre los que se encuentran hormonas, pigmentos o aceites esenciales.
- **Compuestos fenólicos:** Cumarinas, flavonoides, lignina y taninos.
- **Alcaloides** (Avalos García & Pérez-Urria Carril, 2011).

#### 1.2.3.1 TERPENOS

Los terpenos son compuestos orgánicos aromáticos y volátiles que están constituidos por la unión de unidades de un hidrocarburo de cinco átomos de carbonos, llamado isopreno.

Considerando que el isopreno es su precursor biológico, los terpenos son a menudo llamados isoprenoides, y se clasifican por el número de unidades de cinco carbonos que contienen, denominándose monoterpenos (C<sub>10</sub>), sesquiterpenos (C<sub>15</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>), triterpenos (C<sub>30</sub>), tetraterpenos (C<sub>40</sub>) y politerpenos (>C<sub>45</sub>) (Martínez, 2009).

Estos compuestos derivan biogenéticamente del ácido mevalónico, el cual, mediante una serie de reacciones orgánicas clásicas catalizadas por enzimas, va a dar lugar a los precursores de los principales tipos de terpenos.

Los terpenos son los metabolitos secundarios que dan las características organolépticas (aroma y sabor) de las plantas y que constituyen la mayor parte del aceite esencial producido por las plantas aromáticas. Poseen propiedades antiinflamatoria, antitumoral, antihipertensiva y antiulcerogénicas (Tabares, 2007).



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 1.2.3.1.1 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son productos volátiles de naturaleza compleja generalmente líquidos a temperatura ambiente, son productos que se pueden obtener por arrastre con corriente de vapor de agua. En general son elaborados por ciertos vegetales y son los responsables del aroma de las plantas (Kuklinski, 1999).

Las acciones farmacológicas de los aceites esenciales son muy variadas, las más importantes son: antiséptica, antiespasmódica, sedante, analgésica, y antiinflamatoria.

Además de sus aplicaciones en terapéutica, los aceites esenciales presentan un gran interés industrial, utilizándose en la industria farmacéutica, en alimentación y sobre todo en perfumería (Waller & Yamasaki, 1996).

### 1.2.3.1.2 Saponinas

Las saponinas son glicósidos esteroides con un núcleo espirostano que tienen la propiedad de formar espuma abundante y estable al agitar sus soluciones acuosas debido a la disminución de la tensión superficial del agua. Son por lo tanto tensioactivos naturales (Martínez, 2008).

Las saponinas han mostrado actividad antimicrobiana, insecticida, expectorante, diurética, cardiovascular, antiinflamatoria, analgésica, antipirética, sedante y hemolítica (Waller & Yamasaki, 1996).

### 1.2.3.2 COMPUESTOS FENÓLICOS

#### 1.2.3.2.1 Cumarinas

Las cumarinas son lactonas insaturadas derivadas de benzo 2-pirona o benzo  $\alpha$ -pirona. Muchas de ellas son fenólicas, por lo que se incluyen dentro de los derivados fenólicos.

Las cumarinas pertenecen al grupo de los metabolitos secundarios sintetizados por la acción del ácido shikímico.

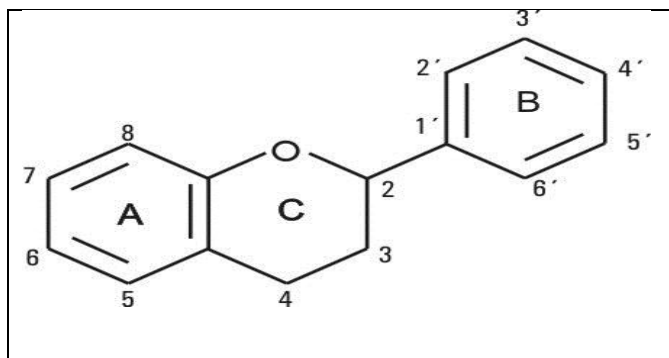


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

En la actualidad el interés por las cumarinas se ha intensificado por sus propiedades antitumorales, antiinflamatorias, antidiabéticas, anticoagulante, antiespasmódicas y vasodilatadora coronaria (Cueva, 2013).

### 1.2.3.2.2 Flavonoides

Son compuestos de bajo peso molecular de estructura tipo C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>' con dos anillos aromáticos unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos ciclada a través de un oxígeno.



**Figura 1.4. Estructura básica de los flavonoides (Martínez-Flórez, González-Gallego, Culebras, & others, 2002).**

Desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos con acciones antivirales y antialérgicas, así como sus propiedades antitrombótica y antiinflamatoria, con un papel protector frente a enfermedades cardiovasculares, cáncer y diversas patologías (Martínez-Flórez et al., 2002).

Profundizaremos más detalladamente la información obtenida de flavonoides en el apartado 1.3.3.1.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 1.2.3.2.3 Taninos

Los taninos son sustancias de estructura polifenólicas presentes en gran número de plantas producto del metabolismo secundario. Su carácter hidrosoluble permite que sea de fácil extracción y de utilidad en diversos usos en la industria química y farmacéutica.

Los taninos presentan propiedades como: la capacidad de curtir la piel y poder astringente que se derivan de la capacidad de los taninos de precipitar macromoléculas.

Las plantas que contienen taninos poseen propiedades antioxidantes, astringentes, hemostáticas, antisépticas y tonificantes (Guerrero, 2001).

### 1.2.3.3 ALCALOIDES

Son sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico, son de origen biológico y mayoritariamente de origen vegetal, ejercen acciones fisiológicas incluso a dosis muy bajas; muchas de estas sustancias son muy tóxicas.

Los alcaloides generan respuestas fisiológicas y psicológicas la mayoría de ellas consecuencia de su interacción con neurotransmisores. A dosis altas, casi todos los alcaloides son muy tóxicos. Sin embargo, a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como relajante muscular, tranquilizante, antitusivos o analgésicos (Arango, 2008).

## 1.3 OXIDACIÓN

### 1.3.1 DEFINICIÓN

El oxígeno se encuentra en su forma más estable ( $O_2$ ), con los electrones que forman el enlace  $\sigma$  antienlazante con el mismo espín, es decir, en lo que se conoce como estado triplete, así el oxígeno es poco reactivo con una velocidad de reacción a temperatura fisiológica baja; sin embargo por reacciones



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

puramente químicas, por acciones enzimáticas o por efecto de las radiaciones ionizantes, se pueden producir una serie de especies químicas o sustancias prooxidantes (moléculas o radicales libres altamente reactivos) que son capaces de dar lugar a múltiples reacciones con otros compuestos presentes en el organismo, que llegan a producir daño celular. Por lo anteriormente expuesto se comprende que, si bien el oxígeno es imprescindible para el metabolismo y las funciones del organismo, no se deben olvidar los muchos efectos tóxicos que posee (Venereo Gutiérrez, 2002).

### 1.3.2 RADICALES LIBRES

Los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón no apareado o impar en el orbital externo, el radical libre, en estas condiciones, busca a toda costa otro electrón para poder parearse; son muy reactivos, tienen una vida media corta, por lo que actúan cercano al sitio en que se forman y son difíciles de dosificar. Estas pequeñas moléculas se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos, y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo) al interactuar con las principales biomoléculas del organismo.

No obstante lo expresado anteriormente, los radicales libres del oxígeno tienen una función fisiológica en el organismo como la de participar en la fagocitosis, favorecen la síntesis de colágeno y la síntesis de prostaglandinas.

Existe un término que incluye a los radicales libres y a otras especies no radicáticas, pero que pueden participar en reacciones que llevan a la elevación de los agentes prooxidantes y son las especies reactivas del oxígeno; a estas se les conoce como especies oxígeno reactivas (EROS), y en la actualidad se ha relacionado con el envejecimiento y más de 100 padecimientos, ya que las especies reactivas (ER) y los radicales libres (RL) favorecen la presencia o





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

complicaciones de enfermedades como: aterosclerosis, diabetes mellitus, procesos inflamatorios, enfermedad de Alzheimer, y diversos tipos de cáncer (Avello & Suwalsky, 2006).

Los radicales libres del oxígeno se clasifican de la forma siguiente:

1. Radicales libres inorgánicos o primarios. Se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan por tanto distintos estados en la reducción de este y se caracterizan por tener una vida media muy corta; estos son el anión superóxido, el radical hidróxilo y el óxido nítrico.
2. Radicales libres orgánicos o secundarios. Se pueden originar por la transferencia de un electrón de un radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales primarios entre sí, poseen una vida media un tanto más larga que los primarios; los principales átomos de las biomoléculas son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre.
3. Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno. Aquí se incluye un grupo de especies químicas que sin ser radicales libres, son generadoras de estas sustancias o resultan de la reducción o metabolismo de ellas, entre las que están el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito, el hidroperóxidos orgánicos (Venereo Gutiérrez, 2002).

Los radicales libres se generan a nivel intracelular y extracelular. Entre las células relacionadas con la producción de radicales libres del oxígeno tenemos los neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos y las células endoteliales. Las enzimas oxidantes involucradas son la xantina-oxidasa, la indolamindioxigenasa, la triptofano-dioxigenasa, la mieloperoxidasa, la galactosa oxidasa, la ciclooxigenasa, la lipoxigenasa, la monoamino-oxidasa y la NADPH oxidasa. Y entre las sustancias y agentes es conocida ampliamente la relación de los productos cíclicos de naturaleza redox como son el paraquat,



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

diquat, alloxano, estreptozozina y doxorubicina, con los radicales libres. También se producen radicales libres por la administración de paracetamol, tetracloruro de carbono y furosemida; por último no se puede olvidar agentes como el humo del cigarrillo, las radiaciones ionizantes, la luz solar, el shock térmico y las sustancias que oxidan el glutatión (GSH) como fuentes de radicales libres (Venereo Gutiérrez, 2002).

Existen algunas circunstancias en que también se producen radicales libres como son:

- Dieta hipercalórica.
- Dieta insuficiente en antioxidantes.
- Procesos inflamatorios y traumatismos.
- Fenómenos de isquemia y reperusión (Venereo Gutiérrez, 2002).

### 1.3.3 SISTEMAS DE DEFENSA ANTIOXIDANTE

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN.

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente -membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas -lípidos, proteínas, ADN, etc.- funcionalmente vital o más importante. Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos. Actúan como eliminadoras (scavengers), con el



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

objetivo de mantener el equilibrio prooxidante/antioxidante a favor de estos últimos. Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen (Montero, 2014).

Intracelular	Membrana	Extracelular
Superóxido dismutasa	Vitamina E	Ceruloplasmina
Catalasa	Betacarotenos	Transferinas
Peroxidasa	Ubiquinol-10	Lactoferrinas
DT-deafarasa		Albúminas
GSH		Haptoglobinas
Proteínas que ligan metales		Vitamina C
Sistemas proteolíticos		Ácido úrico
Vitamina C		Vitamina E

**Tabla 2. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción (Montero, 2014).**

Origen	Acción
<b>1. Exógenos</b>	
Vitamina E	- Neutraliza el oxígeno singlete
	- Captura radicales libres hidroxilo
	- Captura O <sub>2</sub>
	- Neutraliza peróxidos
Vitamina C	- Neutraliza el oxígeno singlete
	- Captura radicales libres de hidroxilo
	- Captura O <sub>2</sub>



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

	- Regenera la forma oxidada de la vitamina E
Betacarotenos	Neutraliza el oxígeno singlete
Flavonoides, licopenos	
<b>2. Endógenos</b>	
Enzimáticos	Cofactor
Superóxido dismutasa (SOD)	Cobre, sodio, manganeso
Catalasa (CAT)	Hierro
Glutación peroxidasa (GPx)	Selenio
<b>3. No enzimáticos</b>	
Glutación	Barreras fisiológicas que enfrenta el oxígeno a su paso desde el aire hasta las células
Coenzima Q	
Ácido Tioctico	Transportadores de metales (transferrina y ceruloplasmina)

**Tabla 3. Clasificación de los antioxidantes, según origen (Montero, 2014).**

### 1.3.3.1 Flavonoides

Los flavonoides comprenden un grupo de compuestos polifenólicos, ampliamente distribuidos en las frutas y en los vegetales, así como en el té negro, el café, la cocoa, la cerveza y el vino rojo. Pueden aparecer desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos muy polimerizados con pesos moleculares superiores a los 30 000 Da.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Existen trece subclases de flavonoides con un total de más de 5.000 compuestos, todos presentando un esqueleto hidrocarbonado del tipo C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (difenilpropano) derivado del ácido shiquímico y de tres restos de acetato (Pérez Trueba, 2003).

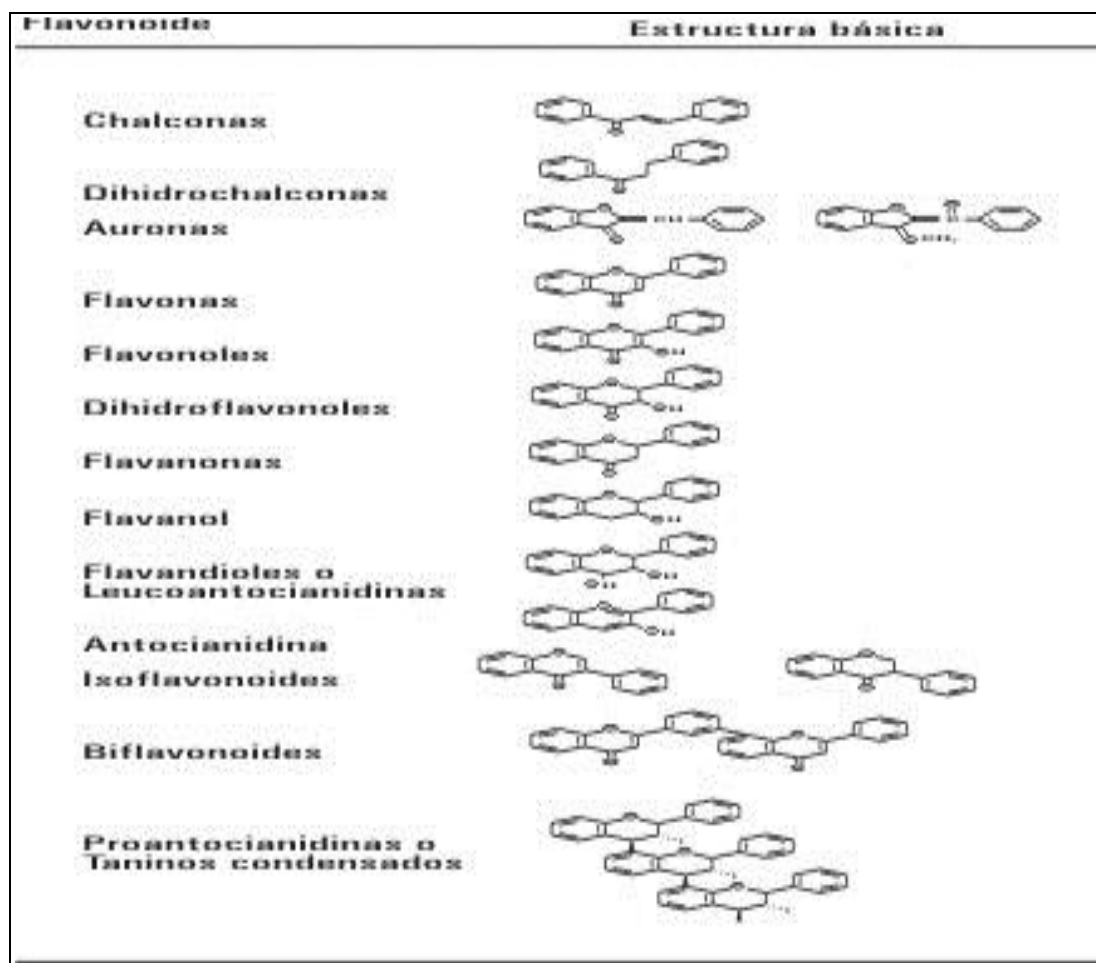


Figura 1.5. Subclases de flavonoides (Pérez Trueba, 2003).

Entre todas, las propiedades biológicas de mayor interés han sido sus efectos antioxidantes, los cuales han sido blancos de un sinnúmero de estudios principalmente de corte clínico y nutricional, teniendo en cuenta que a menudo dosis farmacológicas de antioxidantes dietéticos comúnmente recomendados en todo el mundo, como es el caso de las combinaciones vitamínicas (vitamina



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

E más vitamina C y b-caroteno), no producen los efectos esperados o estos resultan dañinos, por lo que para lograr una mejor acción antioxidante se prefiere incluir en la dieta una mezcla de flavonoides y taninos (Pérez Trueba, 2003).

### 1.3.3.1.1 Mecanismos antioxidantes de los flavonoides

Existe un consenso de que la actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelatantes de metales y secuestradoras de radicales libres.

Algunos autores se refieren además a la inhibición de oxidasas, como la lipoxigenasa, la ciclooxygenasa, la mieloperoxidasa, la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa, evitando la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) *in vivo*, así como de hidroperóxidos orgánicos. Por otra parte, se ha podido conocer que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2, al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, la catalasa y la superóxido dismutasa. De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de los radicales libres y en la formación del radical en sí (Pérez Trueba, 2003).

### 1.3.3.2 Carotenoides

Los carotenoides o tetraterpenoides son una clase de pigmentos terpenoides con 40 átomos de carbono derivados biosintéticamente a partir de dos unidades de geranil-geranilpirofosfato, en su mayoría son solubles en solventes apolares y de coloraciones que oscilan entre el amarillo (por ejemplo el  $\beta$ -caroteno) y el rojo (por ejemplo el licopeno) (Martínez, 2003).

El interés hacia los carotenoides se ha incrementado debido a que algunos de estos pigmentos, además de ser provitamínicos, han demostrado tener capacidad de protección contra el daño fotooxidativo en tejidos humanos. Las funciones antioxidantes de los



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

carotenoides se han asociado a la disminución del daño al ADN y a la transformación maligna celular, tanto in vitro como in vivo, lo cual parece producir un decremento en la incidencia de algunos tipos de enfermedades.

Los carotenoides tienen la capacidad de inactivar algunas especies de moléculas en estado de excitación electrónica principalmente las debidas a reacciones fotosensibles. El mecanismo de acción de los carotenoides en la salud humana es que sirven como un supresor superóxido  $O_2^-$  (Rodríguez, 2010).

### 1.3.3.3 Vitamina C

La **vitamina C** es una vitamina hidrosoluble sensible al calor. Químicamente hablando, se trata de ácido L-ascórbico y sus sales, los ascorbatos (los más comunes, que son ascorbatos de sodio y de calcio). La vitamina C es un cofactor enzimático implicado en diversas reacciones fisiológicas (hidroxilación). Es necesaria para la síntesis del colágeno y de los glóbulos rojos, y contribuye al buen funcionamiento del sistema inmunitario (Martínez, 2003).

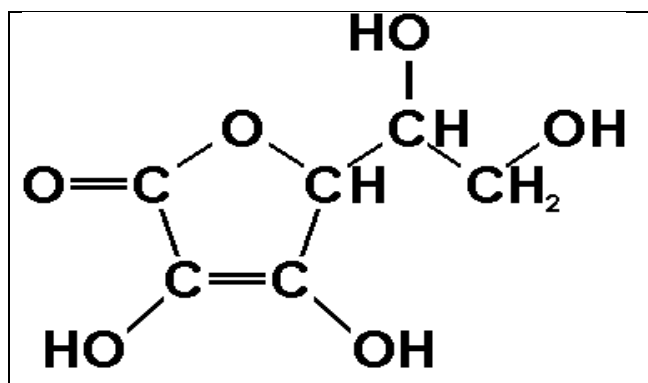


Figura 1.6. Estructura de la vitamina C (Martínez, 2003).

### 1.3.3.4 Vitamina E

La vitamina E, también denominada Tocoferol es una vitamina liposoluble que ingresa al organismo a través de una gran cantidad de alimentos. Tiene funciones muy importantes en el organismo como la fertilidad y la formación de tejidos.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Al ser liposoluble, la vitamina E se disuelve en aceites y grasas y se consume a través de alimentos ricos en grasas. Las vitaminas liposolubles se acumulan en el cuerpo por lo que no es necesario consumirlas diariamente. Al contrario, el exceso puede ser perjudicial. La vitamina E se almacena en el hígado y en los tejidos adiposos del organismo (Martínez, 2003).

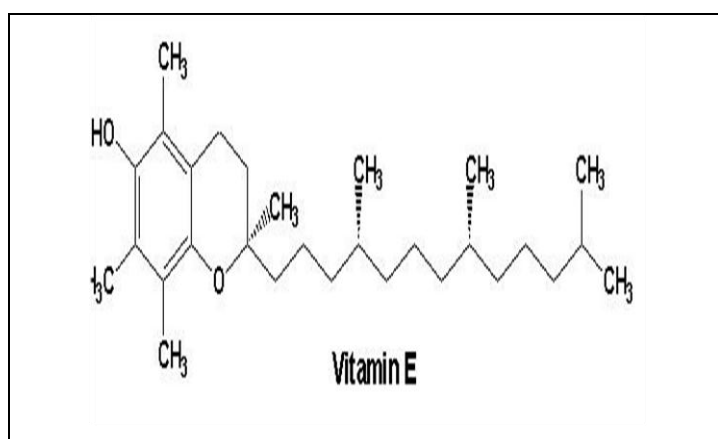


Figura 1.7. Estructura de la vitamina E (Martínez, 2003).

### 1.4 MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Actualmente, existen diversos métodos para determinar la actividad antioxidante, los cuales se basan en su capacidad para captar radicales libres. Entre ellos se pueden mencionar los descritos en la tabla 4:

ENSAYO	CATEGORIA
Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS)	Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)
1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH)	
Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP)	
N,N-dimetil- <i>p</i> -fenilendiamina (DMPD)	
Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)	





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC)</b>	Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno. (HAT)
<b>Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP)</b>	
<b>Inhibición de la oxidación del ácido linoleico</b>	
<b>Inhibición de la oxidación de lípidos de baja densidad (LDL)</b>	

Tabla 4. Clasificación de los ensayos según su modo de reacción (Pérez, Vargas, Martínez, García, & Hernández, 2003).

### 1.4.1 DPPH ENSAYO DE LA CAPACIDAD DE CAPTACIÓN DE RADICALES

#### 1.4.1.1 Fundamento

Brand-Williams et al., (1995) evaluaron la actividad de compuestos específicos o extractos usando el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) en soluciones determinadas.

Este radical tiene un electrón desapareado que presenta una coloración violeta intensa, el mismo que al ser reducido por una sustancia antioxidante se decolora hacia amarillo pálido. La absorbancia es medida espectrofotométricamente a 520 nm y proporciona un índice para estimar la capacidad del compuesto de prueba para atrapar radicales.

Los resultados se expresan como  $IC_{50}$ , que representa la cantidad de muestra que reduce la absorbancia de la solución de DPPH en un 50%. Así, un menor valor de  $IC_{50}$  indica mayor actividad antioxidante, porque se requiere menos cantidad de la muestra para disminuir en 50% la absorbancia de la solución de DPPH (Tovar, 2013).



UNIVERSIDAD DE CUENCA

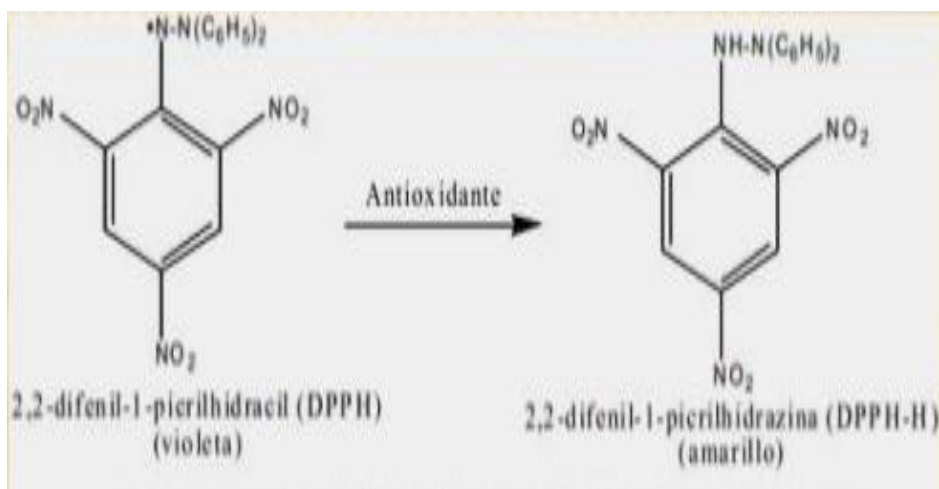


Figura 1.8. Reacción química entre el radical DPPH y la especie antioxidante (Tovar, 2013).

#### 1.4.2 TÉCNICA DEL PODER REDUCTOR (FERRICIANURO DE POTASIO)

##### 1.4.2.1 Fundamento

Los métodos para medir el poder reductor son de los pocos que utilizan compuestos inorgánicos para la medida de la capacidad reductora de sustancias, principalmente en su habilidad para reducir  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ .

Este ensayo fue desarrollado por Oyaizu y se basa en la formación de ferrocianuro férrico, este compuesto reacciona con el  $\text{FeCl}_3$  produciéndose una intensa coloración verde esmeralda que absorbe a 700 nm, cuya intensidad es dependiente de la concentración de los antioxidantes que se encuentran en la muestra, cuanto mayor sea la absorbancia en el medio de la reacción mayor será el poder reductor de las sustancias antioxidantes que se evalúan (Martínez, 2003).

El valor del poder de reducción está ligado a la cantidad de radicales libres que un agente antioxidante está en capacidad de captar para anular su alta reactividad, y esta capacidad a la vez tiene relación directa con la concentración del agente antioxidante, al aumentar la concentración aumenta el poder de reducción, el incremento de la absorbancia da a entender un



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

aumento en el poder reductor de los extractos (Cardona Henao, Mejía, & Fernando, 2009).

### **1.4.3 EVALUACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR LA TÉCNICA DE FOLIN CIOLCATEAU.**

#### **1.4.3.1 Fundamento**

El método inicialmente desarrollado (método de Folin- Denis) ha sido modificado más tarde (método Folin - Ciocalteu) por la adición de sulfato de litio al reactivo para evitar la formación de precipitados.

El método de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno y molibdeno, siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula (Bravo Rodríguez & Jiménez Herráez, 2011).

### **1.4.4 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (THIN LAYER CHROMATOGRAPHY-TLC)**

#### **1.4.4.1 Fundamento**

La cromatografía en capa fina (TLC) consiste en la separación de mezclas de compuestos mediante la exposición de dicha mezcla a un sistema bifásico equilibrado, con el fin de identificarlos y/o cuantificarlos (Couso, 2010).

Es una técnica analítica de separación de componentes que utilizan la distribución de las sustancias entre dos fases, una móvil y otra estacionaria. La primera, también conocida como eluyente, de naturaleza líquida o gaseosa tiene como misión arrastrar las sustancias a través de la fase fija.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

La fase estacionaria es una fina capa adsorbente polar que tradicionalmente ha sido celulosa, gel de sílice, óxido de aluminio o poliamida, y que últimamente se ha ampliado la gama de posibilidades a sílices químicamente modificados (Túñez, 2008).

El número de sistemas eluyentes son casi infinitos. Mayoritariamente son combinaciones de disolventes de diferentes polaridades, con presencia ocasional de ácidos o bases. El único requisito que se exige a estos reactivos químicos, es que su grado de riqueza sea elevado.

La cromatografía es una técnica que consiste en sembrar una gota de una disolución cerca del extremo de una placa cromatográfica, y acto seguido, se sumerge en un determinado sistema eluyente, éste empieza a ascender por capilaridad por encima de la placa (fase estacionaria) arrastrando la muestra. Al transcurrir unos minutos, es que cada componente, se quedará a una distancia concreta del origen, según presente más o menos afinidad por los disolventes de la fase móvil, “dibujando” un *spot* o mancha.

El conjunto de todas estas manchas y su distribución relativa, se convierte en una especie de huella que la permite identificar (Oriols, 2011).

### **Factor de retención ( $R_f$ )**

El factor de retención ( $R_f$ ) es una medida de la relación entre la distancia de migración de la sustancia dividida por la distancia recorrida por el disolvente. El valor de  $R_f$  depende de las condiciones en las cuales se corre la muestra (tipo de adsorbente, eluyente, así como las condiciones de la placa, temperatura) (Arias, 2011).



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## CAPÍTULO II

### MATERIALES

#### 2.1 ANÁLISIS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (THIN LAYER CHROMATOGRAPHY (TLC)).

Para la identificación de metabolitos presentes en los extractos obtenidos utilizando TLC se emplearon los siguientes materiales:

- ✓ **Fase estacionaria:** placas de sílica gel (plástico y vidrio) 60F254
- ✓ **Fases móviles:**
  - Tolueno- acetato de etilo (85:15)
  - Acetato de etilo- ácido acético glacial - ácido fórmico- agua (100:11:11:26)
  - Acetato de etilo: metanol: agua (100:13,5:10)
  - Cloroformo-ácido acético glacial-metanol-agua (60:35:12:8)
  - Tolueno- dioxano-ácido acético glacial (80:35:4)
  - Tolueno-cloroformo-etanol (40:40:10)
- **Reveladores**

➤ Productos naturales	Flavonoides y cumarinas
➤ Vainillina-ácido fosfórico.	Saponinas
➤ Anizaldehído-ácido sulfúrico	Saponinas y terpenoides
➤ Berlín	Compuestos fenólicos
- **Patrones (0.25mg/ml)**
  - Escopoletina.
  - Umbeliferona.
  - Quercetina.
  
  - Isorhamnetin.
  - Apigenina.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

- Querecetin 3-glucorónido.
- Escina.
- Eugenol.
- Esclareol.
- Geraniol.
- Ácido caféico.
- Ácido gálico.
- Ácido tánico.
- Ácido ferúlico.
- Extractos metanólicos y de diclorometano de *Jungia rugosa*.
- Jeringa de vidrio 100 µl.
- Cámara de vidrio para fases móviles.
- Pinza metálica.
- Probetas.
- Vasos de precipitación de 250 ml.
- Varillas de vidrio.
- Frascos ámbar.
- Estufa.
- Secadora.
- Equipo de lectura de placas TLC (Camag TLC visualizer).
- Recipientes de vidrio.



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 2.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

#### 2.2.1 Evaluación de la actividad antioxidante por la técnica del DPPH (2,2 DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL)

En el análisis de la determinación de actividad antioxidante por el método de DPPH se empleó los siguientes materiales:

- ✓ Balanza analítica modelo BBK-31, marca Boeco.
- ✓ Vasos de precipitación de 50 ml.
- ✓ Balones de aforo de 100 ml.
- ✓ Varillas de vidrio.
- ✓ Espátula.
- ✓ Papel aluminio.
- ✓ Etanol Analítico.
- ✓ Extractos metanólicos y de diclorometano de *Jungia rugosa* Less de concentración de 20 mg/ml.
- ✓ Agua destilada ultrapura calidad HPLC.
- ✓ Tubos Falcón de 10 ml.
- ✓ Gradillas.
- ✓ Tubos de vidrio pequeños.
- ✓ Puntas para pipetas.
- ✓ Pipetas automáticas :
  - 10-100 µl marca Boeco (serie Nro. 8076667).
  - 100- 1000 µl marca Boeco (serie Nro HJO8254).
- ✓ Vortex modelo VX22, marca Labnet.
- ✓ Espectrofotómetro marca Thermo, modelo Genesys 10-s.
- ✓ Cubetas plásticas.





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 2.2.1.1 Preparación de la solución de DPPH 0,06 Mm

- En un vaso de precipitación de 25 ml cubierto de papel aluminio se pesaron 0,0024g del reactivo de DPPH en la balanza analítica.
- Con el uso de una varilla se procedió a disolver con la adición de alícuotas de etanol analítico y se transfirió a un balón de aforo de 100 ml con lavados sucesivos del vaso.
- Se aforó a 100 ml con la cantidad necesaria de etanol.
- Finalmente se homogenizó con movimientos de inversión.
- **Precaución: esta solución debe prepararse inmediatamente antes de su uso, y no usarla después de tres horas posteriores a su preparación.**

2,2 DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL				
Marca Sigma –Aldrich				
Nº de lote 1898-66-4				
Especificaciones físico químicas				
Fórmula Química	Estado físico	Masa molar	Densidad	Solubilidad
$C_{18}H_{12}N_5O_6$	Solido Cristalino	394.3 g/mol	1.4 Kg/ m <sup>3</sup>	Insoluble en agua

Tabla 5. Especificaciones del DPPH (Sigma Aldrich, 2015).



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 2.2.1.2. Preparación de la solución madre de ácido ascórbico de concentración 100 µg/ml

- En un vaso de 25 ml cubierto con papel aluminio se pesó 0,0100 g de reactivo de ácido ascórbico.
- Con el uso de una varilla se disolvió mediante la adición de alícuotas de agua destilada de calidad HPLC.
- Se transfirió a un balón de aforo de 100 ml cubierto con papel aluminio, se aforó y se homogenizó.
- Ácido Ascórbico.

Tabla 6. Especificaciones del ácido ascórbico (Sigma Aldrich, 2015).

<b>ÁCIDO L- ASCÓRBICO</b> <b>Marca Sigma- Aldrich</b> <b>Especificaciones físico químicas</b>				
<b>Formula Química</b>	<b>Punto de fusión</b>	<b>Masa molar</b>	<b>Densidad</b>	<b>Solubilidad en agua</b>
C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	190 °C	176.12 g/mol	1.65 g/ cm <sup>3</sup>	0.33 g/ml

### 2.2.2 Evaluación de la actividad antioxidante por el método del Poder Reductor (TECNICA OYAIU).

En la evaluación de la actividad antioxidante por el método del poder reductor descrito se utilizó los siguientes materiales:

- ✓ Balanza analítica BBK-31, marca BOECO.
- ✓ Potenciómetro modelo Orion Star A221, marca Thermo Scientific.
- ✓ Vortex modelo VX22, marca Labnet.
- ✓ Baño maría.
- ✓ Centrifuga.
- ✓ Espectrofotómetro marca Thermo, modelo Genesys 10-s.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

- ✓ Espátulas.
- ✓ Varillas de vidrio.
- ✓ Balones de aforo de 100, 500, 1000 ml.
- ✓ Vasos de precipitación 100 y 250 ml.
- ✓ Pipetas de 5 y 10 ml.
- ✓ Probetas 100ml.
- ✓ Frascos ámbar.
- ✓ Papel aluminio.
- ✓ Gradillas.
- ✓ Tubos Falcon 10ml.
- ✓ Tubos de vidrio pequeños.
- ✓ Ácido ascórbico.
- ✓ Etanol analítico.
- ✓ Agua destilada.
- ✓ Puntas para pipeta.
- ✓ Pipetas automáticas :
  - 10-100  $\mu$ l marca Boeco (serie Nro. 8076667).
  - 100- 1000  $\mu$ l marca Boeco (serie Nro HJO8254).
- ✓ Cubetas plásticas.
- ✓ Solución buffer de fosfatos 0,2 M pH 6,6.
- ✓ Solución de ferrocianuro de potasio 1 % (w/v).
- ✓ Solución de ácido tricloroacético 10 % (w/v).
- ✓ Solución de cloruro férrico 0,1 %.
- ✓ Extractos metanólicos y de diclorometano de *Jungia rugosa*.
- ✓



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 2.2.2.1 Preparación de reactivos

#### 2.2.2.1.1 Preparación de buffer de fosfato 0.2M pH 6.6

##### **Preparación de solución de fosfato de sodio monobásico dihidratado 0.2 M (Solución A).**

- Se pesa en una balanza analítica 15.6 g del reactivo de fosfato de sodio monobásico dihidratado en un vaso de precipitación de 250 ml.
- Se agregan pequeñas alícuotas de agua destilada y se disuelve con ayuda de una varilla.
- Se afora en un balón de 500ml homogenizando la solución con 20 -30 movimientos de inversión, se etiqueta y cubre con papel aluminio para proteger de la luz.

##### **Preparación de solución de fosfato de sodio bibásico heptahidratado 0.2 M (Solución B).**

- Se pesa en una balanza analítica 26.8 g del reactivo de fosfato de sodio dibásico heptahidratado en un vaso de precipitación de 250 ml.
- Se agregan pequeñas alícuotas de agua destilada y se disuelve con ayuda de una varilla.
- Se afora en un balón de 500ml homogenizando la solución con 20 -30 movimientos de inversión, se etiqueta y cubre con papel aluminio para proteger de la luz.
- Medimos con una probeta 62.5 ml de la solución A y se mezclan con 37.5 de la solución B para obtener un pH 6.6.
- Se transfirió la solución final a un frasco ámbar.
- En el caso de no ajustar el pH a 6.6 se utilizará una solución de hidróxido de sodio o a su vez una solución de ácido clorhídrico dependiendo de la necesidad.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 2.2.2.1.2 Preparación de la solución de ferricianuro de potasio 1%(%w/v)

- En un vaso de 250 ml se pasa 5 g de reactivo.
- Se añaden pequeñas alícuotas de agua destilada y con ayuda de una varilla de vidrio disolvemos.
- Se afora en un balón de 500ml con agua destilada, homogenizando de 20-30 veces con movimientos de inversión.
- Se cubre con papel aluminio y se etiqueta correctamente.

### 2.2.2.1.3 Preparación de la solución de ácido tricloroacético 10 %(%w/v).

- En un vaso de precipitación se pesan 50 g de reactivo.
- Se añaden pequeñas alícuotas de agua destilada y con ayuda de una varilla de vidrio disolvemos.
- Se afora en un balón de 500ml con agua destilada, homogenizando de 20-30 veces con movimientos de inversión.
- Se cubre con papel aluminio y se etiqueta correctamente.

### 2.2.2.1.4 Preparación de la solución de cloruro férrico 0,1%.

- En un vaso de precipitación de 100ml se pesó 0.1665 g de reactivo.
- Se añaden pequeñas alícuotas de agua destilada y con ayuda de una varilla de vidrio disolvemos.
- Se afora en un balón de 100ml con agua destilada, homogenizando de 20-30 veces con movimientos de inversión.
- Se cubre con papel aluminio y se etiqueta correctamente.

## 2.3 EVALUACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR LA TÉCNICA DE FOLIN CIOLCATEAU.

En la evaluación de compuestos fenólicos por la técnica de Folin-Ciolcateau se emplearon los siguientes materiales.

- ✓ Molibdato sódico.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

- ✓ Tungstato de sodio.
- ✓ Ácido fosfórico al 80%.
- ✓ Ácido clorhídrico concentrado
- ✓ Sulfato de litio.
- ✓ Bromo.
- ✓ Ácido caféico como material de referencia.
- ✓ Hidróxido de sodio 2N.
- ✓ Extractos metanólicos y de diclorometano de *Jungia rugosa* Less.
- ✓ Balanza analítica BBK-31, marca BOECO.
- ✓ Agua destilada.
- ✓ Espátulas
- ✓ Balones de aforo de 100 ml
- ✓ Varillas
- ✓ Vasos de precipitación de 25,50 y 100 ml.
- ✓ Soporte metálico.
- ✓ Pinza y nuez metálica.
- ✓ Canicas.
- ✓ Equipo de reflujo.
- ✓ Tubos de ensayo de 5ml
- ✓ Pipetas automáticas
- ✓ Gradillas
- ✓ Cubetas
- ✓ Puntas plásticas
- ✓ Espectrofotómetro marca Thermo, modelo Genesys 10-s.
- ✓ Vortex modelo VX22, marca Labnet.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 2.3.1 Preparación del reactivo de Folin Ciolcateau.

- Pesar 10 g de Tungstato de sodio y 2,5 de Molibdato de sodio.
- Disolver los 10g de Tungstato de sodio y los 2,5g de Molibdato de sodio en 70 ml de agua destilada en un matraz volumétrico.
- Añadir 5 mL de ácido fosfórico al 85% y 10 mL de HCl concentrado.
- Reflujo durante 10 horas.
- Agregar 15g de Sulfato de litio, 5 mL de agua y una gota de Bromo.
- Reflujo durante 15 minutos.
- Enfriar a temperatura ambiente y aforar a 100mL con agua destilada.

### 2.3.2 Preparación de patrones de ácido caféico.

- Pesar 0.1 g de ácido caféico y aforar en 100 ml de agua destilada, se calienta un poco a baño maría para diluir mejor.
- La concentración de esta solución es de 1000 ppm. Se toman 20 ml de la solución de 1000 ppm y se afora a 100 mL y se obtuvo una solución final de 200 ppm.
- Posteriormente se prepararon los estándares para la curva de calibración de ácidos fenólicos siguiendo el procedimiento de la tabla.

Volumen de solución patrón de concentración 200 ppm.	Volumen agua purificada (ml)	Concentración de los patrones de ácido caféico (ppm)
2,5	97,5	5
5	95	10
12,5	87,5	25
25	75	50

Tabla 7. Preparación de los estándares de ácido caféico.



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

## **CAPÍTULO III**

### **MÉTODOS**

#### **3.1 ANÁLISIS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (THIN LAYER CHROMATOGRAPHY-TLC)**

##### **3.1.1 Preparación de las placas para TLC**

Para la preparación de las placas de TLC se utilizaron los materiales mencionados, luego se trazó una línea de siembra a un centímetro del borde inferior y a ocho centímetros de ésta se trazó la línea de frente del solvente.

Posteriormente se realiza la desecación de la placa en la estufa durante 1 hora.

##### **3.1.1.1 Aplicación de la muestra.**

- En el borde superior de la placa se identificó el metabolito a investigar, la fase móvil y el revelador empleados; en la parte inferior se identificaron los códigos de los extractos a analizar y patrones.
- Cada extracto se colocó a un centímetro de distancia entre sí sobre la línea de siembra.
- La cantidad de muestra utilizada en la siembra fue de 4 µl.

##### **3.1.1.2 Elución sobre la placa.**

- Saturar la cámara cromatográfica durante 30 minutos antes de colocar la placa.
- Utilizando la pinza se colocó la placa en la cámara de vidrio provista de la fase móvil, según el metabolito a identificar.
- El corrimiento se detiene cuando la fase móvil ha llegado a la línea de frente del solvente.
- Se retira la placa de la cámara de vidrio con una pinza y se seca a temperatura ambiente o con la ayuda de una secadora dependiendo del solvente, bajo la campana de extracción de vapores.





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 3.1.1.3 Revelado postcromatográfico.

La identificación de los compuestos incoloros exige que estos sean revelados, para facilitar su visualización se usan distintos tipos de reveladores según los metabolitos a ser identificados.

Metabolito	Revelador	Espectro de detección	
		Visible	UV-365nm
<b>Cumarinas</b>	Productos naturales	-----	Fluorescencia: Azul/azul-verde
<b>Flavonoides</b>	Productos naturales	<i>Flavonoles:</i> naranja-amarillo/amarillo-verde	Fluorescencia amarilla intensa
		<i>Flavonas:</i> Naranja/amarillo-verde	
<b>Saponinas</b>	Vainilla 1% en ácido sulfúrico	Azul/azul-violeta/rojo/amarillo-café	-----
	Anizaldehído-ácido sulfúrico		Fluorescencias: Azul/verde/violeta
	Vainillina-ácido fosfórico	Rojo-violeta	Fluorescencia: Roja-azul
<b>Triterpenos glucósidos</b>	Vainillina 1% en ácido sulfúrico	Azul/verde/rojo/café	Sin fluorescencia
	Anizaldehído-ácido sulfúrico		Fluorescencia
<b>Terpenos</b>	Vainillina 1% en ácido sulfúrico	Morado-negruzco	Sin fluorescencia

Tabla 8. Detección de metabolitos en el revelado postcromatográfico (Wagner, 2009).



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Una vez que se han revelado las placas se dejan secar a la temperatura y tiempo establecido en la marcha para cada metabolito y se procede a visualizarlas en el equipo de lecturas de placas de TLC (Camag TLC visualizer).

El equipo permite realizar visualizaciones de las placas a 254nm y 366nm y luz visible permitiendo revelar las fluorescencias que presentan las bandas de los compuestos a analizar.

### 3.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

En la investigación se evaluaron dos técnicas:

1. Evaluación de la actividad antioxidante según la técnica del DPPH.
2. Evaluación de la actividad antioxidante según la técnica de poder reductor férrico.

#### 3.2.1 Evaluación de la actividad antioxidante según la técnica 2,2- Difenil-1- picril-hidrazilo (DPPH).

Esta técnica cuyo fundamento se detalló en el apartado 1.4.1 evaluó la actividad antioxidante de trece extractos metanólicos y trece extractos de diclorometano, los materiales y reactivos utilizados se especifican en el apartado 2.2.1.

El estándar de referencia usado fue el ácido ascórbico y todas las determinaciones se realizaron por triplicado de manera que se han procesado 78 determinaciones utilizando la siguiente curva de calibración.



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

## 3.2.1.1. Preparación de la curva de calibración de Ácido Ascórbico.

PATRÓN Nº	1	2	3	4	5	6	7	Blanco	Control
Concentración (µg/ml)	1	2	3	4	5	6	7	-	-
Volumen (µl) (solución madre de ácido ascórbico 100 µg/ml)	20	40	60	80	100	120	140	-	-
Agua destilada (µl)	1980	1960	1940	1920	1900	1880	1860	-	-
Homogeneizar en el vortex									
Tomar de cada uno de los patrones anteriores los siguientes volúmenes									
Patrones (ml)	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	-	-
Solución DPPH (ml)	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	-	0.7
Etanol absoluto (ml)	-	-	-	-	-	-	-	1.4	0.7
Homogeneizar en el vortex									
Incubar 30 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz.									
Leer la absorbancia a 520 nm frente a blanco de etanol									

Tabla 9. Curva de calibración técnica DPPH.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 3.2.1.2 Procedimiento para la determinación de la actividad antioxidante de los extractos mediante la técnica del DPPH.

#### 3.2.1.2.1 Preparación de la solución madre de extracto de concentración de 200 µg/ml

- En un tubo Falcón cubierto de papel aluminio para proteger de la luz se miden 50 µl del extracto (solución de 20mg/ml de extracto vegetal liofilizado de metanol) y se agregan 5 ml de etanol absoluto.
- Se homogeneizó usando el vortex.

#### 3.2.1.2.2 Preparación de las soluciones diluidas de extracto.

- Se cubrió la gradilla de tubos con papel aluminio para proteger las soluciones de la luz y se procedió de la siguiente manera:

Tubo Nº	1	2	3	4	Blanco	Control
Volumen (solución madre de extracto 200 µg/ml)	75	150	375	750	-	-
Etanol Absoluto (µl)	2925	2850	2625	2250	-	-
Concentración final soluciones de extracto (µg/ml)	5	10	25	50	-	-
Homogeneizar en el vortex						
Leer la absorbancia de la clorofila a 520 nm						
Volumen soluciones diluidas de extracto (ml)	0.7	0.7	0.7	0.7	-	-
Solución DPPH (ml)	0.7	0.7	0.7	0.7	-	0.7
Etanol (ml)	-	-	-	-	1.4	0.7
Incubar 30 minutos a temperatura ambiente y oscuridad						
Leer a 520 nm frente a blanco de etanol						

Tabla 10. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos vegetales.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

La actividad antioxidante se determinó usando las curvas de calibración y se expresó mediante el IC<sub>50</sub> (cantidad de muestra que reduce la absorbancia de la solución de DPPH en un 50%).

$$IC_{50} = \frac{50-b}{m}$$

Donde:

50= 50% de inhibición (eje de las ordenadas).

B= punto de intersección de la curva y el eje de las ordenadas.

m= pendiente de la curva.

La actividad captadora de radical DPPH se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = [(AC - AA) / AC] \times 100$$

Donde:

**% Inhibición** = % de actividad captadora del radical DPPH.

**AC**= Absorbancia del control.

**AA**= Absorbancia del estándar o extracto (Álvarez, Bolívar, Garma, Tut-Heredia, & Romero, 2013).



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 3.2.2 Evaluación de la actividad antioxidante según la técnica de poder reductor férrico.

Esta técnica cuyo fundamento se detalló en 1.4.2 determinó la actividad antioxidante de 13 extractos metanólicos y 13 extractos de diclorometano, los materiales y reactivos empleados se especifican en 2.2.2. El estándar de referencia usado fue el ácido ascórbico y todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Los resultados se reportaron en términos de IC50 detallado anteriormente en la técnica del DPPH.

#### 3.2.2.1 Elaboración de las curvas de calibración

Para la elaboración de las curvas de calibración del método del poder reductor se emplearon los materiales descritos en 2.2.2 y se procedió como indica la tabla.

<b>PATRÓN Nº</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>Blanco</b>	<b>Control</b>
<b>Concentración (µg/ml)</b>	1	2	3	4	5	6	7	-----	-----
<b>Volumen (µl) (solución madre de ácido ascórbico 100µg/ml )</b>	5	10	50	100	300	450	500	-----	-----
<b>Agua destilada (µl)</b>	995	990	950	900	700	550	500	2.5	-----
<b>Homogeneizar en el vortex</b>									
<b>Tomar de cada uno de los patrones anteriores los siguientes volúmenes</b>									
<b>Patrones (ml)</b>	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	-----	0.5
<b>Buffer de fosfatos 0.2M, pH 6.6 (ml)</b>	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	-----	1.25



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>Ferricianuro de potasio 1% (ml)</b>	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	-----	1.25
<b>Homogeneizar e incubar a baño maría a 50 °C por 20 minutos</b> <b>Dejar enfriar hasta temperatura ambiente y agregar:</b>									
<b>Ácido tricloroacético (ml)</b>	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	-----	1.25
<b>Centrifugar a 3000 rpm por 10 minutos</b>									
<b>Sobrenadante (ml)</b>	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	-----	1.25
<b>Agua destilada(ml)</b>	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	-----	1.25
<b>Cloruro férrico 0,1% (ml)</b>	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-----	0.25
<b>Dejar reposar 10 minutos y leer la absorbancia a 700nm frente al blanco de agua destilada</b>									

**Tabla 11. Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante de extractos mediante la técnica del poder reductor del ferricianuro.**

## 3.2.2.2 Preparación de la solución madre de extracto de concentración de 200 ug/ml

- Se midió 100 µl del extracto y se colocó en un tubo Falcón cubierto de papel aluminio.
- Se adicionó agua en el caso de los extractos metanólicos y metanol analítico en el caso de los extractos de diclorometano hasta completar un volumen final de 10 ml.
- Se midieron las cantidades de extracto y etanol en el patrón como se indica en la siguiente tabla.



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tubo N°	1	2	3	4	5	Blanco	Control
Volumen (solución madre de extracto 200 ug/ml) (µl)	50	125	250	500	1000	-----	-----
Agua destilada (µl)	950	875	750	500	-----	2.5	-----
Concentración final de soluciones de extracto (µg / ml)	10	25	50	100	200	-----	-----
<b>Homogeneizar en el vortex</b>							
Volumen soluciones diluidas de extracto (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5		
Buffer de fosfatos 0.2M, pH 6.6 (ml)	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25		1.25
Ferricianuro de potasio 1% (ml)	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25		1.25
<b>Homogeneizar e incubar a baño maría a 50 °C por 20 minutos. Dejar enfriar hasta temperatura ambiente y agregar:</b>							
Ácido tricloroacético 10% (ml)	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25		1.25
<b>Centrifugar a 3000 rpm por 10 minutos</b>							
Sobrenadante (ml)	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25		1.25
Agua destilada(ml)	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25		1.25
Cloruro férrico 0,1% (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25		0.25
<b>Dejar reposar 10 minutos y leer la absorbancia a 700nm frente a blanco de agua destilada.</b>							

Tabla 12. Determinación de la actividad antioxidante de extractos vegetales mediante la técnica del poder reductor del ferricianuro.





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 3.3 EVALUACION DE FENOLES TOTALES SEGÚN LA TECNICA DE FOLIN-CIOLCATEAU

Para determinar el contenido total de fenoles se procedió según la técnica de Folin Ciolcateau cuyo fundamento se especifica en el apartado 1.4.3. Se analizaron 13 extractos metanólicos y de diclorometano utilizando una solución patrón de ácido caféico como sustancia de referencia. Los materiales y reactivos empleados en el desarrollo se detallan en el apartado 2.3, todas las determinaciones se trabajaron por triplicado.

Como medida de precaución para la aplicación de la técnica, **el reactivo de Folin Ciolcateau debe prepararse inmediatamente antes de su uso con la finalidad de evitar la formación de precipitados debido a la inestabilidad del mismo.**

#### 3.3.1 Elaboración de las curvas de calibración

En la elaboración de las curvas de calibración de la técnica de Folin-Ciolcateau se emplearon los materiales detallados en el apartado 2.3 y se procedió como indica la siguiente tabla:

PATRÓN Nº	1	2	3	4
Concentración de los patrones de ácido caféico (ppm)	5	10	25	50
Volumen (ml) (solución de ácido caféico 200 ppm)	2	2	2	2
Reactivo de Folin Ciolcateau (µl)	500	500	500	500
Solución de NAOH 2N (µl)	400	400	400	400
Agitar por 5 minutos usando un vortex Leer inmediatamente la absorbancia a 650 nm				

Tabla 13. Elaboración de curva de calibración de ácido caféico.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 3.3.2 Aplicación del método de Folin Ciolcateau en los extractos de concentración (2 $\mu$ g/ml).

- ✓ Se trabajó a partir de los extractos vegetales metanólicos de concentración de 20mg/ml.
- ✓ Se toman 0,4 ml de la solución anterior y se aforó en un balón de 50 ml con agua destilada.
- ✓ Se homogenizó con movimientos de inversión.
- ✓ Posteriormente se tomaron 2mL de la solución anterior y se aforó a 100 ml con agua destilada, de manera que se obtiene una solución de concentración de 2 $\mu$ g/ml, se homogeneizó y se procede como se detalla en la siguiente tabla:

<b>Volumen (solución madre de extracto metanólico 2<math>\mu</math>g/ml) (ml)</b>	<b>2</b>
<b>Reactivo de Folin Ciolcateau (<math>\mu</math>l)</b>	<b>500</b>
<b>Volumen Solución de NAOH 2N (<math>\mu</math>l)</b>	<b>400</b>
<b>Agitar por 5 minutos usando un vortex</b> <b>Leer inmediatamente la absorbancia a 650 nm</b>	

Tabla 14. Método Folin Ciolcateau en extractos metanólicos.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

#### 4.1 Resultados de la cromatografía en capa fina (TLC).

Para la identificación de los metabolitos secundarios presentes en *Jungia rugosa* Less se efectuaron corrimientos de cromatografía en capa fina (TLC) siguiendo la metodología descrita en el apartado 3.1.1.1, para lo cual se trabajó con extractos en metanol y diclorometano como solventes de extracción.

Los metabolitos investigados fueron cumarinas, flavonoides, saponinas, terpenoides, ya que estos se caracterizan por su capacidad antioxidante como lo cita Ciappini en su estudio (Ciappini, 2013), se emplearon fases móviles y reveladores específicos para cada metabolito (Anexo A).

Las placas cromatografías se observaron bajo luz UV 250, 366 nm y espectro visible con el propósito de identificar coloraciones características de cada compuesto.

Según los resultados obtenidos en la presente investigación se corroboró la presencia de compuestos fenólicos tales como los flavonoides y cumarinas, siendo los flavonoides los más destacados por su importancia en la función antioxidante, como lo demuestra Enciso y Arroyo en su estudio realizado de la actividad antioxidante en las hojas de *Jungia rugosa* (Enciso & Arroyo, 2011). Los cromatogramas han permitido evidenciar intensas fluorescencias amarillas a 366nm (figura 4-1), lo que nos indica la presencia de flavonas y flavonoles que por la coloración semejante a la del patrón de quercetina utilizado podríamos concluir que se trata de flavonoles de tipo quercetin y quercetin 3-glucorónico, variando la coloración de acuerdo a la concentración de los metabolitos analizados en el extracto, además se observaron fluorescencias azul-celestes semejantes a las del patrón umbeliferona para cumarinas a 366 nm por lo que se puede concluir que el extracto metanólico de *Jungia rugosa* Less contiene cumarinas.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

En el caso de los flavonoides en donde se utilizó como eluyente una fase apolar (tolueno – dioxano – ácido acético) la elución de los extractos fue nula debido a la incompatibilidad de polaridades.

Los compuestos fenólicos presentes en la especie *Jungia rugosa* Less son de tipo polar por lo que no existió una correcta elución , siendo prácticamente nula en el caso de los extractos de diclorometano, influyendo directamente las fases móviles empleadas (Anexo A).

Al utilizar el revelador para compuestos fenólicos (revelador Berlín) se observaron fluorescencias azules lo que permitió identificar la presencia de compuestos fenólicos pues la coloración es misma que la que presentan los cuatro patrones de referencia empleados como lo son el ácido caféico, ácido gálico, ácido tánico, ácido ferúlico lo que se puede observar en la figura 4-2.

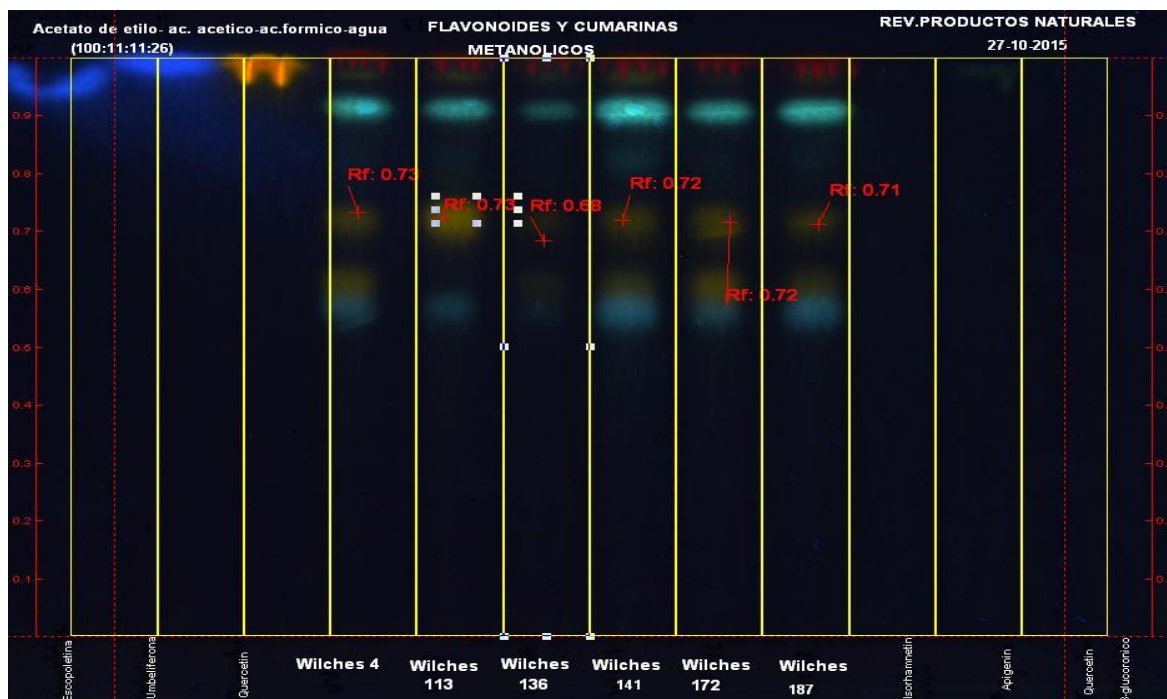


Figura 4. 1. Fotografía del cromatograma bajo UV 366 para análisis de flavonoides y cumarinas.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

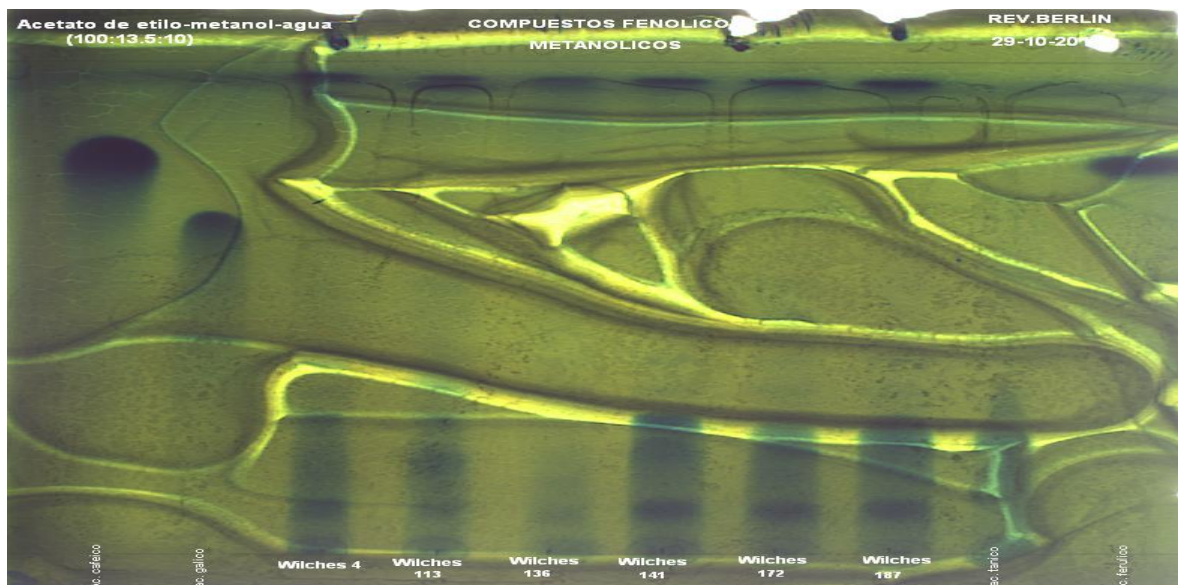


Figura 4. 2. Fotografía del cromatograma para análisis de compuestos fenólicos.

El análisis de la figura 4-3 nos indica la presencia de terpenos por la coloración verde azulada, similar a la de los patrones utilizados de tipo esclareol y eugenol cuyos Rfs concuerdan además con los metabolitos analizados procedentes de *Jungia rugosa* Less.

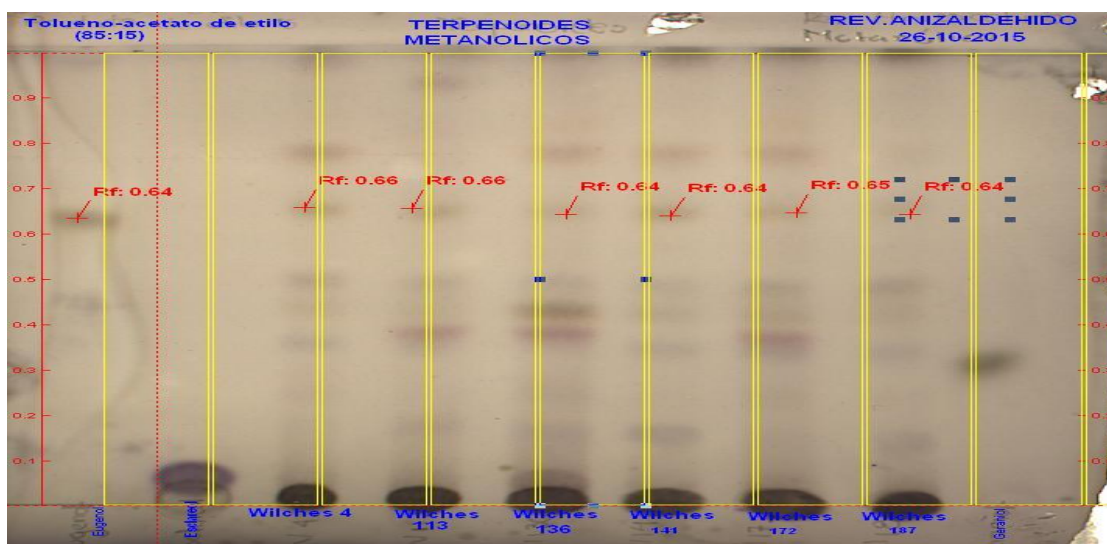


Figura 4. 3. Fotografía del cromatograma usando filtro UV 366 para análisis de Terpenoides.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Por otra parte se presume la posible presencia de saponinas ya que se apreció una coloración azul muy tenue lo que se demuestra en la figura 4-4.

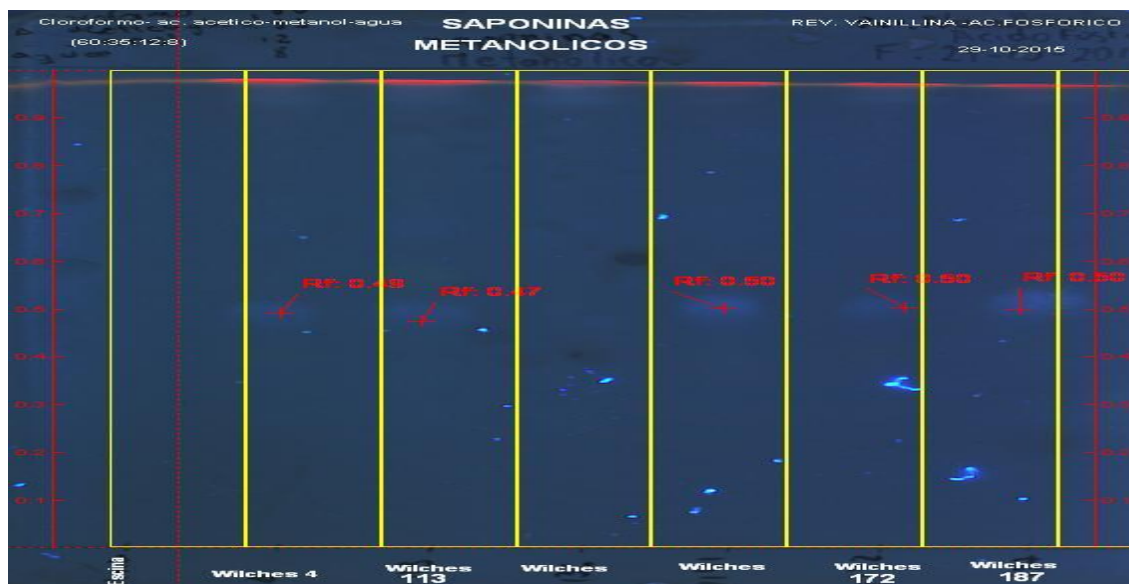


Figura 4. 4. Fotografía del cromatograma en filtro UV 366 de Saponinas.

## 4.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Para la evaluación de la actividad antioxidante en extractos vegetales metanólicos y de diclorometano de *Jungia rugosa* Less se emplearon las técnicas descritas en el apartado 3.2 y se obtuvieron los siguientes resultados:

### 4.2.1 Evaluación de la actividad antioxidante según la técnica 2,2- Difenil-1- picril-hidrazilo (DPPH).

#### 4.2.1.1 Curvas de calibración

Para la determinación de la actividad antioxidante mediante la técnica de captación del radical 2,2- Difenil-1- picril-hidrazilo (DPPH) se aplicó la metodología descrita en el apartado 3.2.1.1, se elaboraron seis curvas de calibración (Anexo B) con siete patrones de concentración de 1-7 µg/ml, se usó ácido ascórbico como estándar de referencia.





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

A partir de las absorbancias obtenidas de los patrones y del control se calculó el % de inhibición empleando la fórmula detallada en el apartado 3.2.1.2.2.

Para la representación de la actividad antioxidante del ácido ascórbico se consideró una de las curvas elaboradas por su coeficiente de determinación o correlación  $R^2$  con un valor de 0,9989 indicando una mayor exactitud (figura 4-4). Los valores correspondientes a todas las curvas trazadas pueden observarse en el Anexo B.

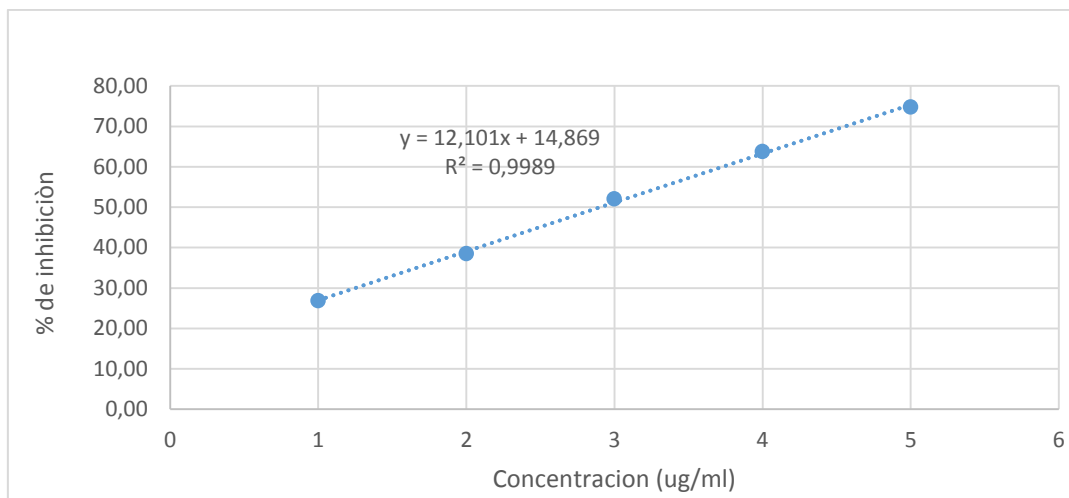
Los valores de absorbancias de los triplicados, el  $IC_{50}$  y el % de inhibición de la curva de calibración se detallan en la siguiente tabla resumen:

Absorbancia control (nm)	Concentración patrón (ug/ml)	Absorbancia a1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coeficiente de variación	% Inhibición	$IC_{50}$ (ug/ml)
0,33	1	0,242	0,240	0,242	0,241	0,001	0,48	26,87	2,90
	2	0,208	0,200	0,201	0,203	0,004	2,15	38,48	
	3	0,158	0,154	0,163	0,158	0,005	2,85	52,02	
	4	0,118	0,120	0,121	0,120	0,002	1,28	63,74	
	5	0,088	0,080	0,082	0,083	0,004	5,00	74,75	
	6	0,046	0,049	0,048	0,048	0,002	3,20	85,56	
	7	0,040	0,036	0,038	0,038	0,002	5,26	88,48	

**Tabla 15. Actividad antioxidante del ácido ascórbico mediante la técnica del DPPH**



## UNIVERSIDAD DE CUENCA



**Figura 4. 5. Curva de calibración de ácido ascórbico mediante la técnica del DPPH.**

Las curvas de calibración se trabajaron con siete patrones de concentración, sin embargo para la gráfica se consideró únicamente las cinco concentraciones iniciales, debido que a concentraciones superiores el radical libre DPPH se neutraliza con el ácido ascórbico, dando lugar a la formación de una meseta.

### Parámetros de validación.

Dentro del estudio de validación de las curvas de calibración se valoró la precisión intra-día, inter-día mediante un análisis de ANOVA, los resultados se expresaron como coeficiente de variación obteniéndose los siguientes resultados:

ANÁLISIS DE VARIANZA			
Patrones	Concentración (ug/ml)	Inter CV (%)	Intra CV (%)
P1	1	1,07	7,83
P2	2	1,31	7,39
P3	3	2,09	6,12





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

IC <sub>50</sub> de los extractos de <i>Jungia rugosa</i> Less por la técnica de DPPH			
P4	4	3,68	0,86
P5	5	4,56	8,86

Tabla 16. ANOVA inter-día e intra-día de las curvas de calibración de ácido ascórbico- método DPPH.

La tendencia lineal se representa a través del coeficiente de determinación  $R^2$ , en las diferentes curvas de calibración trabajadas en la técnica DPPH se obtuvieron coeficientes de determinación  $R^2$  con valores superiores a 0,99 (ANEXO B).

En el ANOVA realizado para la validación de las curvas se puede observar tanto en el análisis inter-día como en el intra- día, que el resultado de los coeficientes de variación de los cinco patrones trabajados son menores al 10%, lo que significa una precisión aceptable según como lo descrito en el Departamento Administrativo Nacional de Estadística.

### 4.2.1.2 Cuantificación de la actividad antioxidante en los extractos metanólicos y de diclorometano de *Jungia rugosa* Less.

En la determinación de la actividad antioxidante tanto en los extractos metanólicos como de diclorometano se trabajaron con trece extractos de cada uno usando cuatro concentraciones 5, 10, 25, 50  $\mu\text{g/ml}$ , cada una por triplicado de modo que se han efectuado 312 determinaciones para esta técnica, demostrándose que todos los extractos analizados presentan actividad antioxidante como se observa en la tabla 17, sin embargo se evidencia que hay mayor actividad para atrapar el radical DPPH en los extractos metanólicos.



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

Código del extracto	IC <sub>50</sub> en extractos metanólicos (ug/ml)	IC <sub>50</sub> en extractos de diclorometano (ug/ml)
Wilches-2	55,32	241
Wilches-4	45,71	153,36
Wilches-113	64,06	227,35
Wilches-126	53,27	135,60
Wilches-134	53,99	141,40
Wilches-136	80,25	169,13
Wilches-141	35,40	262,13
Wilches-147	55,03	217,15
Wilches-163	53,91	170,45
Wilches-172	41,46	214,53
Wilches-174	40,58	128,54
Wilches-187	31,45	139,05
Wilches-190	61,37	153,64

**Tabla 17. Valores de IC<sub>50</sub> de extractos analizados por el método DPPH.**

Todos los valores de absorbancia, el IC<sub>50</sub> y el % de inhibición para cada extracto analizado se detallan en el Anexo H.

Los valores obtenidos del IC<sub>50</sub> en los extractos son muy variables comprenden en un rango entre 31,45 µg/ml – 80,25 µg/m en los extractos metanólicos y en un rango entre 128,54 µg/ml- 262,13 µg/ml en los extractos de diclorometano.

El poder antioxidante de los extractos es inferior en relación al estándar ácido ascórbico de referencia empleado el cual presenta un IC<sub>50</sub> de 2,90 µg/ml, sin



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

embargo se debe considerar que el ácido ascórbico es un compuesto puro a diferencia de los extractos los cuales contiene una mezcla compuestos.

### 4.2.2 Evaluación de la actividad antioxidante según la técnica del poder reductor (Oyaizú)

#### 4.2.2.1 Curvas de calibración

Para la determinación de la actividad antioxidante mediante la técnica del poder reductor se aplicó la metodología descrita en el apartado 3.3.1.1, se elaboraron seis curvas de calibración (Anexo C) con cinco patrones de concentración de 1-5 µg/ml, se usó ácido ascórbico como estándar de referencia.

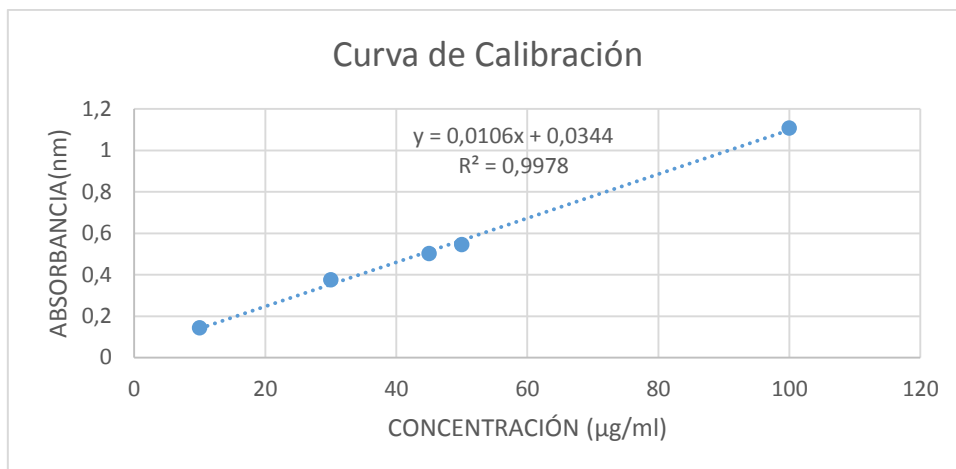
Para la representación de la actividad antioxidante del ácido ascórbico se consideró una de las curvas elaboradas por su coeficiente de determinación  $R^2$  con un valor de 0,9989 indicando una mayor exactitud (figura 4-5). Los valores de absorbancias por triplicado y el  $IC_{50}$  de la curva de calibración se detallan en la siguiente tabla:

Absorbancia control (nm)	Concentración (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coef. de variación	$IC_{50}$ (ug/ml)
0,058	1	0,141	0,144	0,145	0,14333	0,002	0,01452	4,71
	2	0,375	0,374	0,374	0,37433	0,0005	0,00154	
	3	0,502	0,505	0,499	0,50	0,003	0,00597	
	4	0,544	0,547	0,541	0,544	0,003	0,00551	
	5	1,109	1,110	1,102	1,107	0,004	0,00393	

**Tabla 18. Actividad antioxidante del ácido ascórbico mediante la técnica de poder reductor.**



## UNIVERSIDAD DE CUENCA



**Figura 4. 6. Curva de calibración de ácido ascórbico mediante la técnica del poder reductor (Oyaizú).**

### Parámetros de validación

Dentro del estudio de validación de las curvas de calibración se valoró la precisión intra-día, inter-día mediante un análisis de ANOVA, los resultados se expresaron como coeficiente de variación obteniéndose los siguientes resultados:

ANÁLISIS DE VARIANZA			
Patrones	Concentración (ug/ml)	Inter CV (%)	Intra CV (%)
P1	1	3,25	1
P2	2	0,79	2,23
P3	3	3,57	0,48
P4	4	2,72	1,53
P5	5	0,37	2,77

**Tabla 19. ANOVA inter-día e intra-día de las curvas de calibración de ácido ascórbico- método poder reductor (Oyaizú).**



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

La tendencia lineal se representa a través del coeficiente de determinación  $R^2$ , en las diferentes curvas de calibración trabajadas en la técnica de poder reductor se obtuvieron coeficientes de determinación  $R^2$  con valores superiores a 0,93 (ANEXO C).

En el ANOVA realizado para la validación de las curvas se puede observar tanto en el análisis inter-día como en el intra- día, que el resultado de los coeficientes de variación de los cinco patrones trabajados son menores al 10%, lo que significa una mayor precisión en el trabajo.

### **4.2.2.2 Cuantificación de la actividad antioxidante en los extractos metanólicos y de diclorometano de *Jungia rugosa* Less.**

La actividad antioxidante se evaluó utilizando el método de Poder reductor (Oyaizú) mencionado en el literal 3.2.1.1, observando que todos los extractos de *Jungia rugosa* Less presentaron actividad antioxidante, esto fue evidente ya que se basa en la formación de ferrocianuro férrico, que reacciona con el  $\text{FeCl}_3$  produciéndose una intensa coloración verde esmeralda dependiente de la concentración de los antioxidantes que se encuentran en la muestra del extracto, a mayor absorbancia mayor poder reductor, la valoración se realizó en concentraciones de: 10, 25, 50, 100 y 200  $\mu\text{g/ml}$  las cuales se trabajaron por triplicado indicándose cada uno de los valores de las absorbancias en los anexos F y G, al igual que los valores de  $\text{IC}_{50}$  se detallan en la tabla 19.

El  $\text{IC}_{50}$  es el parámetro que nos indica la concentración para inhibir el 50 % de los radicales libres con respecto a la capacidad antioxidante de cada uno de los extractos de *Jungia rugosa* Less.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

IC <sub>50</sub> (µg/ml)		
CÓDIGO DE EXTRACTO	METANÓLICOS	DICLOROMETANO
WILCHES 2	45,45	55,55
WILCHES 4	62,48	50,02
WILCHES 113	49,9	83,31
WILCHES 126	55,55	49,99
WILCHES 134	38,46	124,95
WILCHES 136	50	49,98
WILCHES 141	45,43	62,47
WILCHES 147	41,65	71,40
WILCHES 163	55,54	71,407
WILCHES 172	33,33	55,54
WILCHES 174	50	55,55
WILCHES 187	49,97	71,39
WILCHES 190	166,63	62,48

Tabla 20. Valores de IC<sub>50</sub> de los extractos de metanólicos y de diclorometano de *Jungia rugosa* Less por el método de Poder reductor del ferricianuro.

Los valores de IC<sub>50</sub> varían entre un rango de 33,33 -166,63 µg/ml en el caso de los extractos metanólicos y 49,99-124,95 µg/ml en el caso de los extractos de diclorometano de *Jungia rugosa* Less. El poder antioxidante de los extractos es inferior en relación al estándar ácido ascórbico de referencia empleado el cual presenta un IC<sub>50</sub> de 4,71µg/ml, sin embargo se debe considerar que el ácido ascórbico es un compuesto puro a diferencia de los extractos los cuales contiene una mezcla compuestos.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### 4.3 Cuantificación de los compuestos fenólicos mediante la técnica de Folin-Ciocalteu.

La valoración de compuestos fenólicos totales se realizó mediante la técnica de Folin Ciocalteu mencionado en el apartado 3.3, la técnica se aplicó en los extractos metanólicos de *Jungia rugosa* Less donde se observó la presencia de compuestos fenólicos totales en todos los extractos, en el caso de los extractos de diclorometano la aplicación del método no fue viable debido a una incompatibilidad en los solvente produciéndose una intensa precipitación, impidiendo la valoración de los compuestos fenólicos totales. Para conocer la concentración de compuestos fenólicos en cada extracto se reemplazó el valor de “y” de la ecuación de la recta por cada lectura de absorbancia, los resultados obtenidos de compuestos fenólicos presente en los extractos analizados de *Jungia rugosa* Less se muestran en la siguiente tabla:

CÓDIGO DE EXTRACTO	COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES (mg/ml)
WILCHES 2	0,81 ± 0,001
WILCHES 4	1,05 ± 0,004
WILCHES 113	1,24 ± 0,0005
WILCHES 126	1,22 ± 0,003
WILCHES 134	2,36 ± 0,001
WILCHES 136	1,86 ± 0,001
WILCHES 141	1,09 ± 0,001
WILCHES 147	2,01 ± 0,001
WILCHES 163	1,19 ± 0,001
WILCHES 172	2,67 ± 0,001
WILCHES 174	3,39 ± 0,004
WILCHES 187	0,85 ± 0,002
WILCHES 190	0,98 ± 0,002

Tabla 21. Resultados de la técnica de Folin-Ciocalteu en extractos metanólicos de *Jungia rugosa* Less.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

La valoración se realizó en una concentración de 2 µg/ml la cual se trabajó por triplicado indicándose cada uno de los valores obtenidos en el anexo F.

Los valores obtenidos de los compuestos fenólicos están en un rango de 0,81 a 3,39 mg/ml, habiéndose confirmado la presencia de compuestos fenólicos en los extractos de *Jungia rugosa* Less.

Para analizar estadísticamente los resultados se aplicó una regresión lineal para valorar la relación entre la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos, se utilizaron los datos obtenidos de las tres técnicas aplicadas en los extractos metanólicos de *Jungia rugosa* Less donde se obtuvieron los siguientes resultados:

TÉCNICA APLICADA	COEFICIENTE DE RELACIÓN	VALOR DE “p”
DPPH	0,0044	0,829
Poder reductor	0,1084	0,272

**Tabla 22. Regresión lineal entre la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos.**

Podemos Concluir que la regresión lineal no es estadísticamente significativa, el valor de “p” obtenido en el análisis es superior a 0,05 lo que refleja que no hay relación entre la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos lo que nos conduce a rechazar la hipótesis planteada al inicio del estudio, lo cual podría atribuirse a la influencia de variables como el tiempo transcurrido entre el desarrollo de cada uno de los métodos aplicados pudo haber generado deterioro de los extractos como lo señalan Bravo & Jiménez: “el contenido de compuestos fenólicos en extractos vegetales muestra un variado grado de susceptibilidad a la oxidación y reducción durante tres y seis meses de almacenamiento” aunque cada uno de los métodos aplicados en los extractos de *Jungia rugosa* Less confirman la actividad antioxidante.





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

La observación de la tabla 22 nos indica que en algunos extractos la concentración de compuestos fenólicos es mayor respecto de otros y podríamos haber supuesto que las actividades oxidantes debieran mantener la misma relación; sin embargo esto no se evidencia en extractos con concentraciones de compuestos fenólicos mayores que presentan bajas actividades antioxidantes y viceversa, por lo que podríamos concluir que no existe relación entre los dos parámetros planteados en la hipótesis de la presente investigación, esto pudiera deberse a que la técnica para la determinación de contenido de compuestos fenólicos podría no estar evaluando a los metabolitos secundarios a los que *Jungia rugosa* Less debe su actividad antioxidante evaluada a través de las técnicas de DPPH y la del poder reductor, Agüero y colaboradores, argumentan en su estudio que los ensayos de cuantificación, tanto de actividad anti-radical como compuestos fenólicos totales, demostraron diferencias significativas en la cantidad y actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, lo cual sugieren se puede ver alterado por las condiciones de cultivo, así como por las variaciones fenológicas, demostrándose que no existe una relación entre la actividad antioxidante y la concentración de compuestos fenólicos.

En nuestro caso podemos presumir que la actividad antioxidante no solo puede deberse a los compuestos fenólicos sino a otros metabolitos como pueden ser los de naturaleza lipídica, los cuales pueden ser motivo de un futuro estudio mediante diferentes técnicas, una de ellas según Tovar puede ser la técnica ABTS (Ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6- sulfónico) que puede aplicarse para determinar compuestos hidrosolubles y liposolubles, cubriendo un rango más amplio de estudio.

Los carotenoides pueden ser los compuestos responsables de gran parte de la acción antioxidante en el caso de los extractos metanólicos y de diclorometano de *Jungia rugosa* Less, en este caso la técnicas aplicadas no valoran compuestos de origen lipídico entre ellos los carotenoides por ello no podemos descartar su presencia y su función antioxidante dentro de nuestros resultados.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES

- ❖ Los resultados obtenidos permiten establecer que no existe una relación entre la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales, lo cual puede deberse a ciertas variables que pudieron afectar la estabilidad y concentración de los extractos y por tanto los resultados obtenidos mediante la aplicación de las técnicas de análisis.
- ❖ Se determinó la actividad antioxidante de trece extractos metanólicos y trece de diclorometano de *Jungia rugosa* Less por el método del DPPH. Las determinaciones demostraron que tanto los extractos metanólicos como los de diclorometano presentaron actividad antioxidante, sin embargo los extractos metanólicos presentan mayor actividad antioxidante por los valores de  $IC_{50}$  lo cual puede atribuirse a la polaridad del solvente que nos permite la extracción de los compuestos fenólicos que en la cromatografía en capa fina se demostró ser de tipo polar
- ❖ En la evaluación de la actividad antioxidante aplicando la técnica del poder reductor de los extractos metanólicos y de diclorometano de *Jungia rugosa* Less se obtuvo una mayor actividad antioxidante en los extractos metanólicos con valores de  $IC_{50}$  inferiores a los obtenidos en los extractos diclorometano, demostrándose una mayor actividad antioxidante en los extractos metanólicos.
- ❖ En la evaluación mediante la técnica de Folin Ciolcateau se pudo cuantificar los compuestos fenólicos de los extractos metanólicos de *Jungia rugosa* Less en los cuales se evidenció que no existe una relación con los resultados obtenidos de actividad antioxidante, lo cual puede deberse a que el análisis realizado a través de la técnica aplicada no valora otros compuestos que pueden ser los



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

responsables de la actividad antioxidante presente en la *Jungia rugosa* Less.

- ❖ Mediante el análisis por cromatografía de capa fina (TLC) en los extractos de *Jungia rugosa* Less se evidenció la presencia de flavonoles de tipo quercetina y quercetina 3 glucorónido, los flavonoides presentes en los extractos son de tipo polar ya que no hubo elución en la fase móvil apolar permaneciendo en la línea de siembra. Además se evidencio la presencia de terpenoides por las coloraciones verdosas presentadas a 366nm. *Jungia rugosa* Less también contienen cumarinas siendo semejantes a la coloración del patrón empleado de umbeliferona y posiblemente pueda existir la presencia de saponinas.
- ❖ La técnica de Folin-Ciocalteu no es aplicable en extractos de diclorometano por la formación de precipitados.



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

## **CAPITULO VI**

### **6. RECOMENDACIONES**

Debido a que se obtuvieron diferentes resultados en las técnicas que valoran la actividad antioxidante se sugiere trabajar todos los extractos durante un periodo de tiempo establecido, equiparable entre las técnicas, lo que nos permitiría hacer una comparación con mayor precisión.

En la cuantificación de compuestos fenólicos totales mediante la técnica de Folin Ciolcateau se recomienda realizar la validación de una curva de calibración diariamente previa al análisis de los extractos a partir de la cual se obtendría los resultados por interpolación.

Se recomienda en un futuro análisis considerar la aplicación de la técnica ABTS la cual nos permite determinar la actividad antioxidante de compuestos de naturaleza lipofílica e hidrofílica.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## BIBLIOGRAFÍA:

- Agüero, M., Segura, C., & Parra, J. (2014). Análisis comparativo de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de cuatro marcas de tisanas de *Hibiscus sabdariffa* (Malvaceae) comercializadas en Costa Rica. *Uniciencia*, 28(1), 34-42.
- Álvarez, R. M. J., Bolívar, N. J., Garma, P. M., Tut-Heredia, Ja., & Romero, K. I. (2013). Actividad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Campeche, México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 12(6). Recuperado a partir de <http://www.journals.usach.cl/ojs/index.php/blacpma/article/view/1380>
- Arango. J. (2008). ALCALOIDESY COMPUESTOS NITROGENADOS. Recuperado a partir de <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/alcaloides.pdf>
- Arias, G. (2011). Cromatografía. Recuperado a partir de <https://sites.google.com/site/libretalabgilbertoarias/cromatografia>
- Avalos García, A., & Pérez-Urria Carril, E. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, 2(3). Recuperado a partir de <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798>
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, (494), 161-172. <http://doi.org/10.4067/S0718-04622006000200010>
- Bravo Rodríguez, M. L., & Jiménez Herráez, G. N. (2011). Estimación del período de conservación de plantas medicinales en fundas de papel a



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

través de la cuantificación de compuestos fenólicos. Recuperado a partir de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2458>

Campoverde Lupercio, J. de L., & Verdugo Pillaga, V. M. (2008). Determinación del efecto cicatrizante de las hojas de carne humana (Jungla cf. rugosa).

Recuperado a partir de

<http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/20266>

Cardona Henao, L. E., Mejía, G., & Fernando, L. (2009). EVALUATION OF ANTIOXIDANT EFFECT OF ESSENTIAL OILS AND EXTRACTS OF EUGENIA CARYOPHYLLATA, ORIGANUM VULGARE AND THYMUS VULGARIS. *Biosalud*, 8(1), 58–70.

Cazar María Elena. (2012). Bioactividad de Plantas y Microorganismos de Ecosistemas de los Andes Ecuatorianos. Recuperado a partir de <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/2547/1/09735.pdf>

Ciappini, M. (2013). Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa., 19, 45-51.

Couso, S. (2010, junio 7). Análisis Químico USC: DETERMINACIÓN DE ETANOL EN BEBIDAS CON CROMATOGRAFÍAS DE GASES.

Recuperado a partir de

<http:// analisisquimicousc.blogspot.com/2010/06/determinacion-de-etanol-en-bebidas-con.html>

Cueva.M. (2013). *UTILIZACIÓN DE LA RADIACIÓN DE MICROONDA PARA LA SÍNTESIS DE CUATRO CUMARINAS, MEDIANTE CONDENSACIÓN DE KNOEVENAGEL*. ESCUELA POLITÉCNICA



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

NACIONAL, Quito. Recuperado a partir de

<http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/6100/1/CD-4808.pdf>

Enciso, E., & Arroyo, J. (2011). Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina*, 72(4), 231-237.

Martínez, A. (2003). CAROTENOIDES. Recuperado a partir de

<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/carotenoides2001.pdf>

Martínez, A. (2008). SAPONINAS ESTEROIDES. Recuperado a partir de

<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/saponinasp.pdf>

Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & others. (2002).

Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(n06). Recuperado a partir de

<http://www.aulamedica.es/gdcr/index.php/nh/article/download/3338/3338>

Martínez, R. (2009). TERPENOIDES. Recuperado a partir de

[http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/10729/MartinezRodriguezRos\\_a02de11.pdf?sequence=2](http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/10729/MartinezRodriguezRos_a02de11.pdf?sequence=2)

Montero, M. (2014). Los Radicales Libres y las Defensas Antioxidantes.

Revisión. *Anales de la Facultad de Medicina*, 57(4), 278-281.

<http://doi.org/10.15381/anales.v57i4.4897>

Oriols, N. (2011). Cromatografía en Capa Fina (TLC). Una herramienta útil para el Conservador-Restaurador | Unicum. Recuperado a partir de



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

<http://unicum.cat/es/2011/06/cromatografia-en-capa-prima-tlc-una-eina-util-per-al-conservador-restaurador/>

Pérez, R. M., Vargas, R., Martínez, F. J., García, E. V., & Hernández, B. (2003).

Actividad antioxidante de los alcaloides de *Bocconia arborea*. Estudio sobre seis métodos de análisis. Recuperado a partir de

<http://digibug.ugr.es/handle/10481/28225>

Pérez Trueba, G. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes.

*Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 22(1), 0-0.

Rodríguez, R. (2010). LOS CAROTENOIDES EN LA SALUD. Recuperado 22

de diciembre de 2015, a partir de [http://www.smb.org.mx/smb-](http://www.smb.org.mx/smb-anterior/text/beb/beb98173115121.pdf)

[anterior/text/beb/beb98173115121.pdf](http://www.smb.org.mx/smb-anterior/text/beb/beb98173115121.pdf)

Tabares, C. X. B. (2007). *Evaluación farmacológica de terpenos y flavonoides*

*de origen vegetal*. Universidad de La Laguna. Recuperado a partir de

<http://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=39614>

Tovar, J. (2013). *DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR*

*DPPH Y ABTS DE 30 PLANTAS RECOLECTADAS EN LA*

*ECOREGION CAFETERA*. UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE

PEREIRA, PEREIRA. Recuperado a partir de

[http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/3636/1/54763T736.](http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/3636/1/54763T736.pdf)

pdf

Túñez, I. (2008). Cromatografía en capa fina. Recuperado a partir de

<http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol->





**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

mol/pdfs/12%20CROMATOGRAF%C3%8DA%20DE%20CAPA%20FIN  
A%20DE%20L%C3%8DPIDOS.pdf

Venereo Gutiérrez, J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y

antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31(2), 126-133.

Waller, G. R., & Yamasaki, K. (Eds.). (1996). *Saponins used in traditional and modern medicine*. New York: Plenum Press.



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### ANEXOS

FASE MÓVIL	METABOLITO A INVESTIGAR	PATRONES (0,25MG/ML)	REVELADORES	PLACAS	DIMENSIONES
Tolueno- acetato de etilo (85:15)	Terpenoides	Eugenol, Esclareol, Geraniol	Anizaldehído	2 soporte de plástico	10 x 10cm
Acetato de etilo- ácido acético glacial - ácido fórmico- agua (100:11:11:26)	Flavonoides- Cumarinas	Escopoletina, Umbeliferona Quercetin Isorhamnetin Apigenin Quercetin 3 glucorónido	Productos naturales	2 soporte de plástico	13 x 10cm
Acetato de etilo: metanol: agua (100:13,5:10)	Flavonoides- Cumarinas	Escopoletina, Umbeliferona Quercetin Isorhamnetin Apigenin Quercetin 3 glucorónido	Productos naturales	2 soporte de plástico	13x 10 cm
Cloroformo- ácido acético glacial-metanol- agua (60:35:12:8)	Saponinas	Escina	Anizaldehído Vainillina- ácido fosfórico	4 soporte de vidrio	8 x 10cm
Tolueno- dioxano-ácido acético glacial (80:35:4)	Flavonoides	Quercetin Isorhamnetin Apigenin Quercetin 3 glucorónido	Productos naturales	2 soportes de plástico	11 x 10 cm
Tolueno- cloroformo- etanol (40:40:10)	Terpenoides	Eugenol, Esclareol, geraniol	Anizaldehído	2 placas de vidrio	10 x 10 cm
Acetato de etilo- metanol-agua (100:13,5:10)	Compuestos fenólicos	Ácido caféico Ácido gálico Ácido tánico Ácido ferúlico	Berlin	2 placas de vidrio	11 x 10 cm



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO A: Marcha fitoquímica para cromatografía de capa fina.

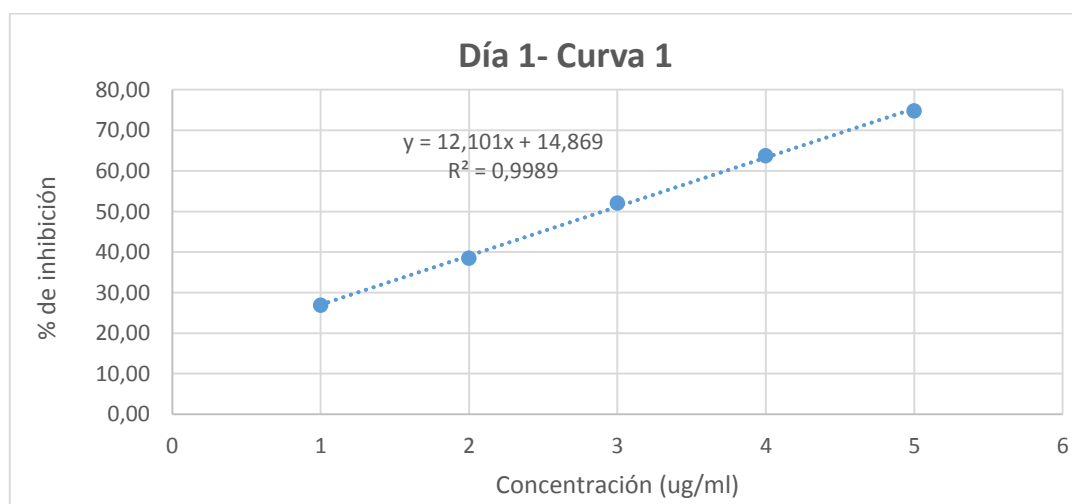
### RESULTADOS DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN TÉCNICA – DPPH

DÍA 1

CURVA 1

#### DÍA 1- Primera determinación

Absorbancia control (nm)	Patrones ácido ascórbico (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coeficiente de variación	% Inhibición	IC 50 (ug/ml)
0,33	1	0,242	0,240	0,242	0,241	0,001	0,48	26,87	2,90
	2	0,208	0,200	0,201	0,203	0,004	2,15	38,48	
	3	0,158	0,154	0,163	0,158	0,005	2,85	52,02	
	4	0,118	0,120	0,121	0,120	0,002	1,28	63,74	
	5	0,088	0,080	0,082	0,083	0,004	5,00	74,75	
	6	0,046	0,049	0,048	0,048	0,002	3,20	85,56	
	7	0,040	0,036	0,038	0,038	0,002	5,26	88,48	

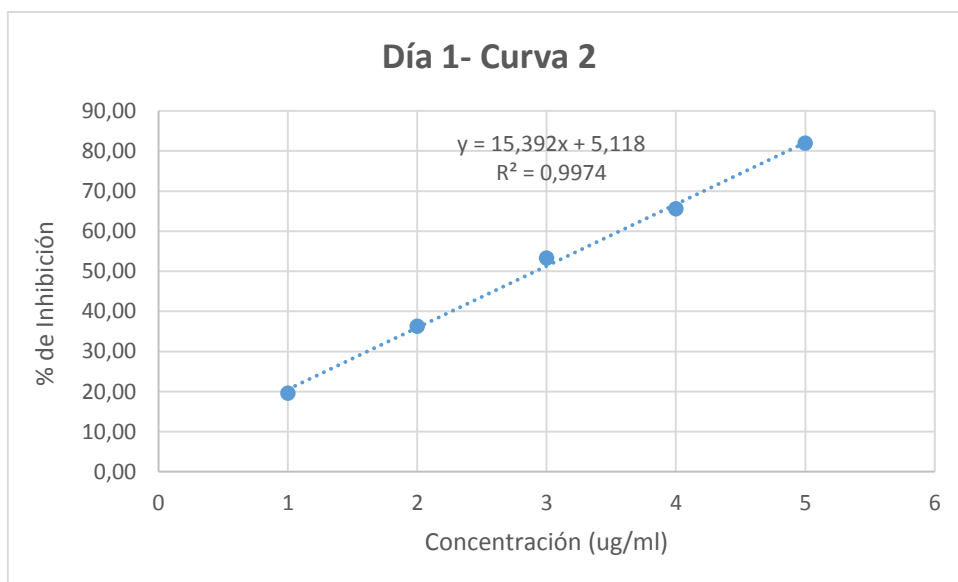




## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### DÍA 1 – CURVA 2

Absorbancia control (nm)	Patrones ácido ascórbico (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coef. de variación	% Inhibición	IC 50 (ug/ml)
0,353	1	0,282	0,284	0,286	0,284	0,002	0,70	19,55	2,91
	2	0,227	0,228	0,220	0,225	0,004	1,94	36,26	
	3	0,167	0,167	0,161	0,165	0,003	2,10	53,26	
	4	0,120	0,121	0,124	0,122	0,002	1,71	65,53	
	5	0,068	0,065	0,059	0,064	0,005	7,16	81,87	
	6	0,049	0,050	0,048	0,049	0,001	2,04	86,12	
	7	0,047	0,039	0,040	0,042	0,004	10,38	88,10	

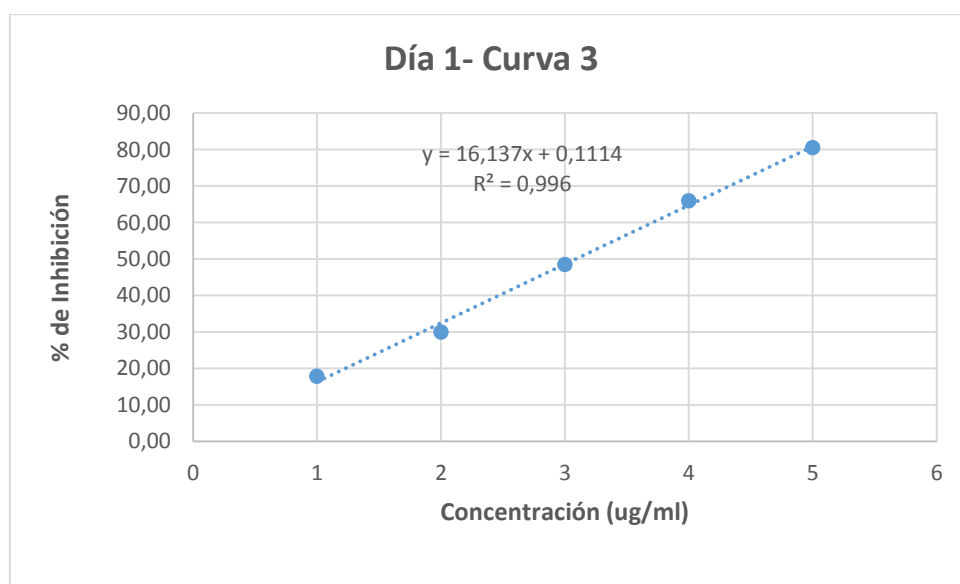




## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### DÍA 1 – CURVA 3

Absorbancia control (nm)	Patrones ácido ascórbico (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coef. de variación	% Inhibición	IC 50 (ug/ml)
0,359	1	0,293	0,297	0,295	0,295	0,002	0,68	17,83	3,09
	2	0,256	0,249	0,250	0,252	0,004	1,50	29,90	
	3	0,186	0,185	0,184	0,185	0,001	0,54	48,47	
	4	0,121	0,122	0,124	0,122	0,002	1,25	65,92	
	5	0,072	0,068	0,070	0,070	0,002	2,86	80,50	
	6	0,056	0,055	0,054	0,055	0,001	1,82	84,68	
	7	0,043	0,042	0,040	0,042	0,002	3,67	88,39	



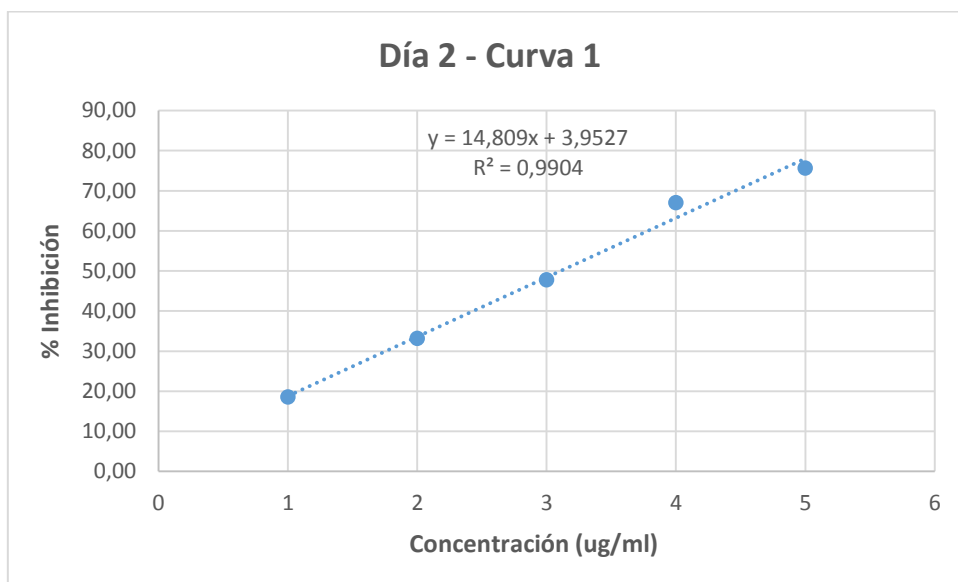


# UNIVERSIDAD DE CUENCA

## DÍA 2

### CURVA 1

Absorbancia control (nm)	Patrones ácido ascórbico (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coef. de variación	% Inhibición	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
0,296	1	0,245	0,240	0,239	0,241	0,003	1,33	18,47	3,10
	2	0,198	0,196	0,200	0,198	0,002	1,01	33,11	
	3	0,151	0,159	0,154	0,155	0,004	2,61	47,75	
	4	0,104	0,091	0,098	0,098	0,007	6,66	67,00	
	5	0,079	0,068	0,070	0,072	0,006	8,10	75,56	
	6	0,056	0,053	0,059	0,056	0,003	5,36	81,08	
	7	0,048	0,040	0,049	0,046	0,005	10,80	84,57	

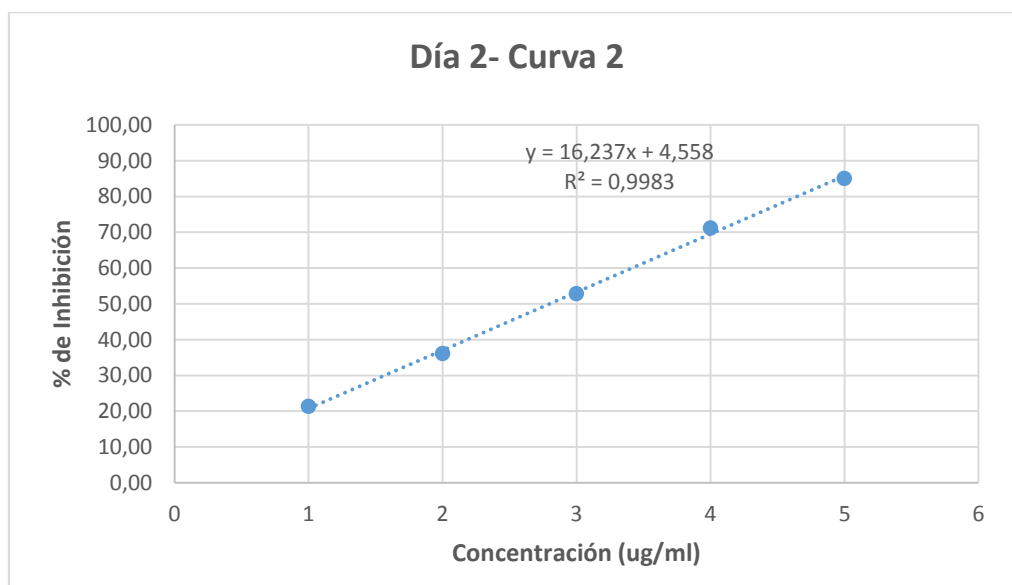




## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### DÍA 2- CURVA 2

Absorbancia control (nm)	Patrones ácido ascórbico (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coeficiente de variación	% Inhibición	IC 50 (ug/ml)
0,411	1	0,321	0,325	0,324	0,323	0,002	0,64	21,33	2,79
	2	0,265	0,262	0,261	0,263	0,002	0,79	36,09	
	3	0,198	0,194	0,190	0,194	0,004	2,06	52,80	
	4	0,112	0,117	0,127	0,119	0,008	6,44	71,13	
	5	0,057	0,058	0,070	0,062	0,007	11,73	85,00	
	6	0,036	0,032	0,034	0,034	0,002	5,88	91,73	
	7	0,018	0,020	0,016	0,018	0,002	11,11	95,62	



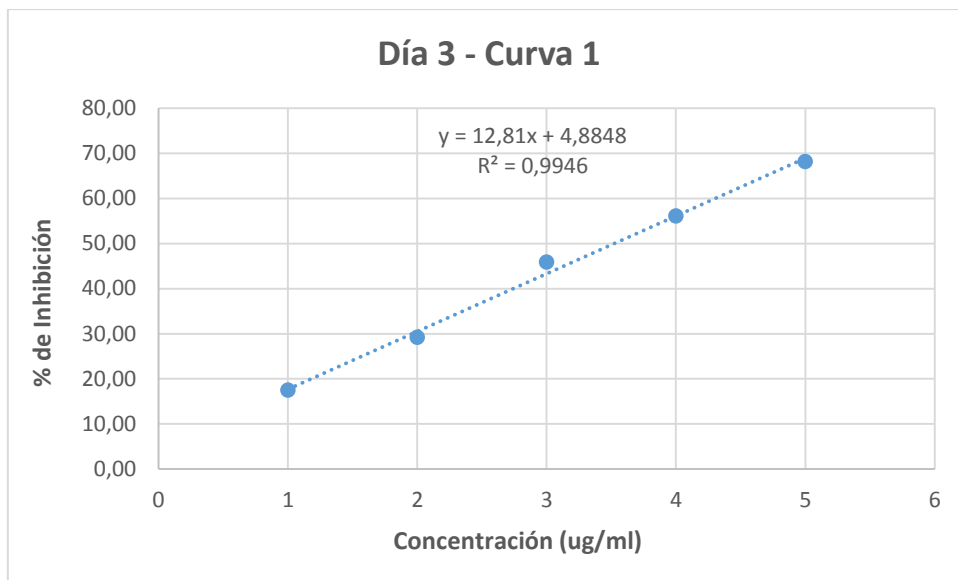


UNIVERSIDAD DE CUENCA

DÍA 3

CURVA 1

Absorbancia control (nm)	Patrones ácido ascórbico (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coef. de variación	% Inhibición	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
0,376	1	0,307	0,314	0,310	0,310	0,004	1,13	17,46	3,52
	2	0,265	0,266	0,268	0,266	0,002	0,57	29,17	
	3	0,204	0,202	0,205	0,204	0,002	0,75	45,83	
	4	0,160	0,168	0,168	0,165	0,005	2,79	56,03	
	5	0,120	0,121	0,119	0,120	0,001	0,83	68,09	
	6	0,083	0,084	0,075	0,081	0,005	6,12	78,55	
	7	0,045	0,048	0,053	0,049	0,004	8,30	87,06	







## UNIVERSIDAD DE CUENCA

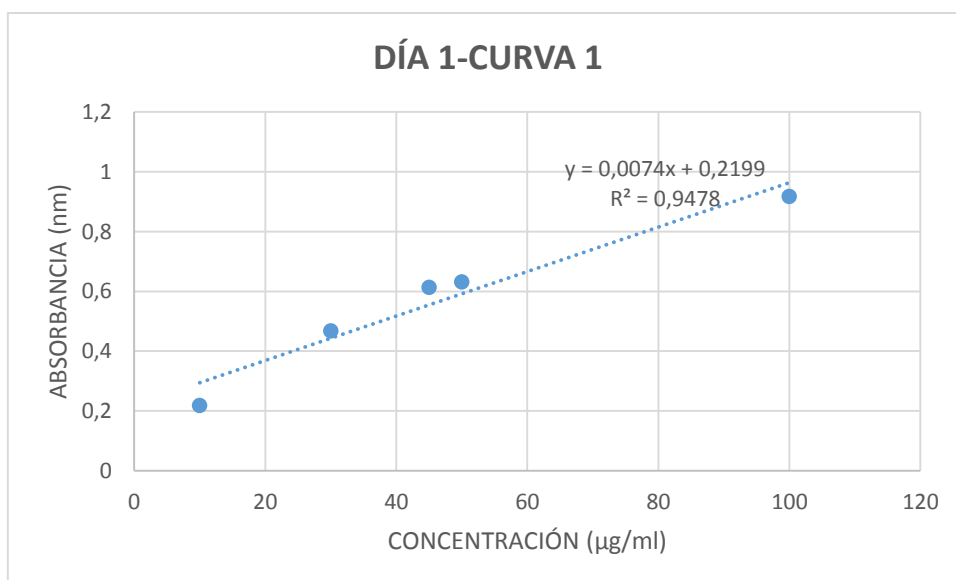
### ANEXO B: Curvas de calibración del ácido ascórbico por el método del DPPH.

### RESULTADOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN TÉCNICA DEL PODER REDUCTOR

#### DÍA 1

#### CURVA 1

Absorbancia control (nm)	Concentración (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coef. de variación	IC 50 (ug/ml)
0,069	1	0,218	0,217	0,217	0,21733	0,003	0,26565	6,72
	2	0,468	0,467	0,467	0,46733	0,002	0,12354	
	3	0,612	0,616	0,612	0,61333	0,004	0,37653	
	4	0,634	0,630	0,628	0,63066	0,007	0,48441	
	5	0,928	0,915	0,909	0,91733	0,006	1,05877	



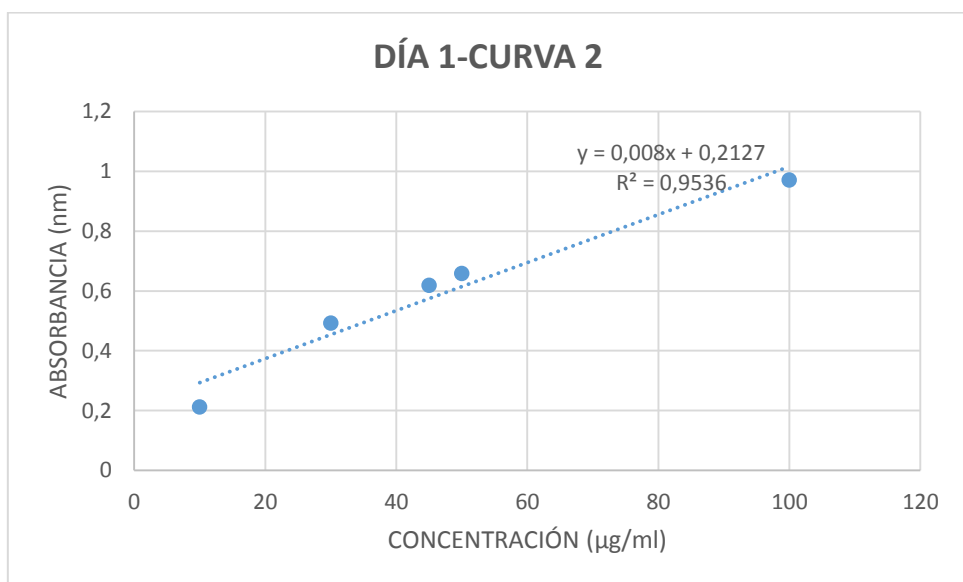


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### DÍA 1

### CURVA 2

Absorbancia control (nm)	Concentración (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coef. de variación	IC 50 (ug/ml)
0,064	1	0,208	0,213	0,214	0,21166	0,003	1,51868	6,22
	2	0,499	0,487	0,489	0,49166	0,006	1,30761	
	3	0,618	0,619	0,619	0,61866	0,0005	0,09332	
	4	0,658	0,659	0,658	0,65833	0,0005	0,08769	
	5	0,977	0,965	0,969	0,97033	0,006	0,62969	



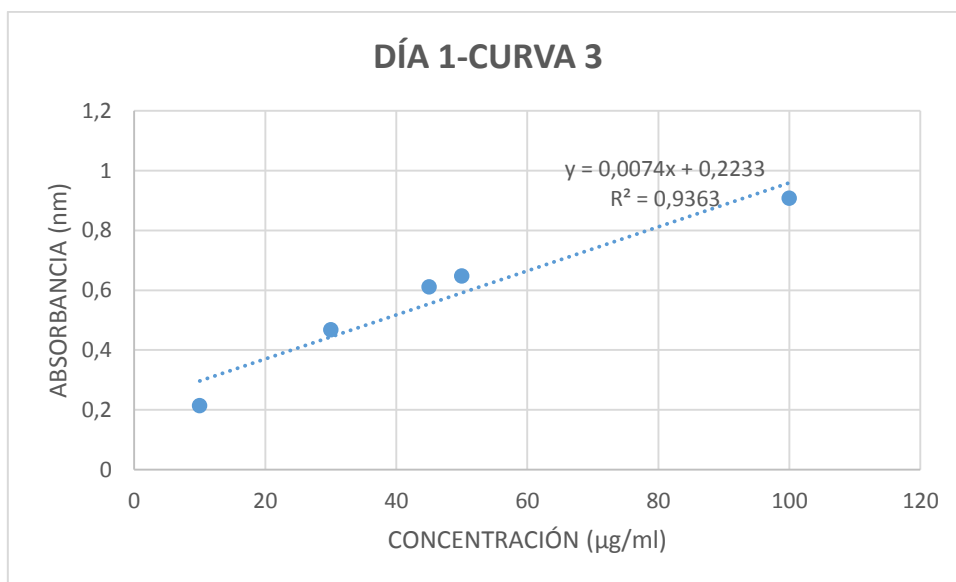


# UNIVERSIDAD DE CUENCA

## DÍA 1

### CURVA 3

Absorbancia control (nm)	Concentración (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coef. de variación	IC 50 (ug/ml)
0,063	1	0,211	0,216	0,213	0,21333	0,0025	0,00251	6,72
	2	0,469	0,464	0,469	0,46733	0,0028	0,00288	
	3	0,61	0,611	0,611	0,61066	0,0005	0,00057	
	4	0,647	0,648	0,647	0,64733	0,0005	0,00057	
	5	0,903	0,909	0,91	0,90733	0,003	0,00378	



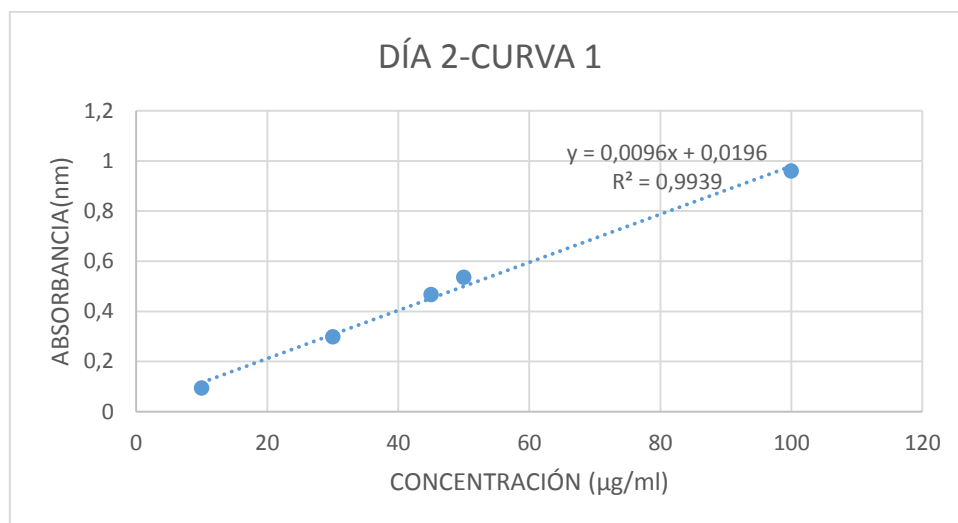


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### DÍA 2

### CURVA 1

Absorbancia control (nm)	Concentración (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coef. de variación	IC 50 (ug/ml)
0,069	1	0,088	0,097	0,097	0,094	0,005	0,05527	5,2
	2	0,301	0,295	0,296	0,2973	0,003	0,01081	
	3	0,449	0,451	0,449	0,467	0,02	0,06308	
	4	0,552	0,507	0,549	0,536	0,02	0,04693	
	5	0,96	0,955	0,964	0,9596	0,004	0,00469	



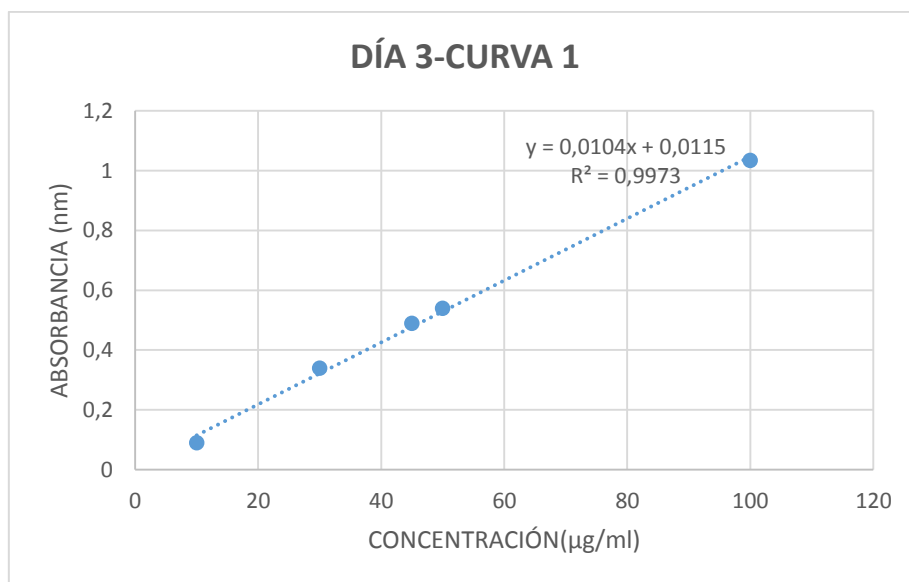


# UNIVERSIDAD DE CUENCA

## DÍA 3

### CURVA 1

Absorbancia control (nm)	Concentración (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coef. de variación	IC 50 (ug/ml)
0,069	1	0,09	0,092	0,087	0,0896	0,002	0,02806	4,8
	2	0,34	0,341	0,335	0,3386	0,003	0,00949	
	3	0,483	0,489	0,493	0,4833	0,005	0,01030	
	4	0,537	0,541	0,54	0,53933	0,002	0,00385	
	5	1,032	1,036	1,034	1,034	0,002	0,00193	



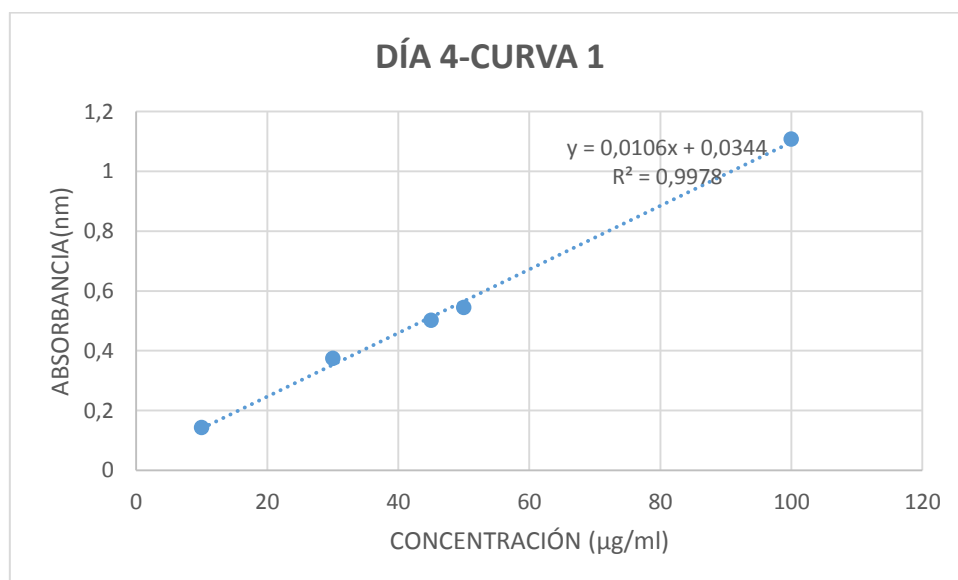


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### DÍA 4

### CURVA 1

Absorbancia control (nm)	Concentración (ug/ml)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	% Coef. de variación	IC 50 (ug/ml)
0,058	1	0,141	0,144	0,145	0,14333	0,002	0,01452	4,71
	2	0,375	0,374	0,374	0,37433	0,0005	0,00154	
	3	0,502	0,505	0,499	0,50	0,003	0,00597	
	4	0,544	0,547	0,541	0,544	0,003	0,00551	
	5	1,109	1,110	1,102	1,107	0,004	0,00393	





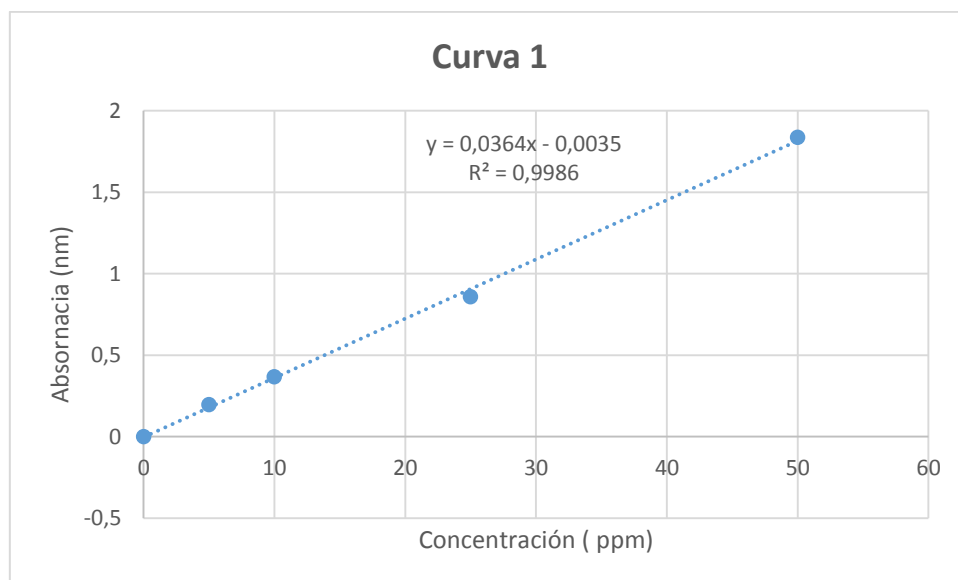
# UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO C: Curvas de calibración del ácido ascórbico por el método del Poder Reductor.

## RESULTADOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TÉCNICA DE FOLIN CIOLCATEAU

ANALISTA 1

CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS Primera determinación						
Patrones ácido caféico (ppm)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	Coef. de variación
0	0	0	0	0	0	0
5	0,196	0,196	0,194	0,195	0,001	0,59
10	0,370	0,363	0,368	0,367	0,003	0,98
25	0,859	0,859	0,858	0,858	0,0005	0,06
50	1,833	1,839	1,836	1,836	0,003	0,16

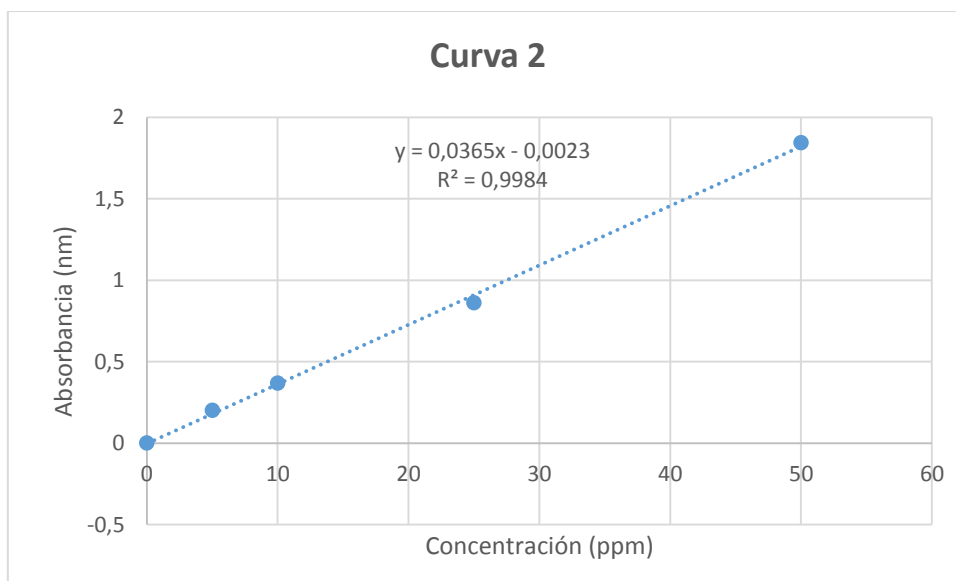




## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS Segunda determinación

Patrones ácido caféico (ppm)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	Coef. de Variación
0	0	0	0	0	0	
5	0,198	0,207	0,200	0,201	0,004	2,35
10	0,361	0,352	0,355	0,367	0,004	1,24
25	0,860	0,855	0,866	0,860	0,005	0,64
50	1,845	1,846	1,840	1,843	0,003	0,17





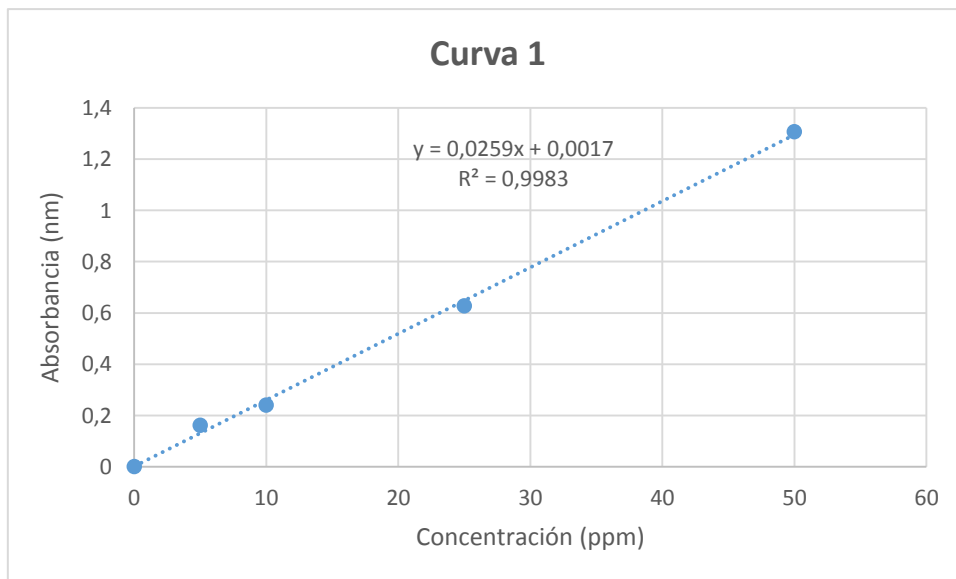


UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANALISTA 2

**CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS**  
Primera determinación

Patrones ácido caféico (ppm)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	Coef. de variación
0	0	0	0	0	0	
5	0,162	0,162	0,164	0,162	0,001	0,71
10	0,241	0,240	0,244	0,241	0,002	0,86
25	0,629	0,627	0,630	0,628	0,001	0,24
50	1,310	1,308	1,305	1,307	0,002	0,19

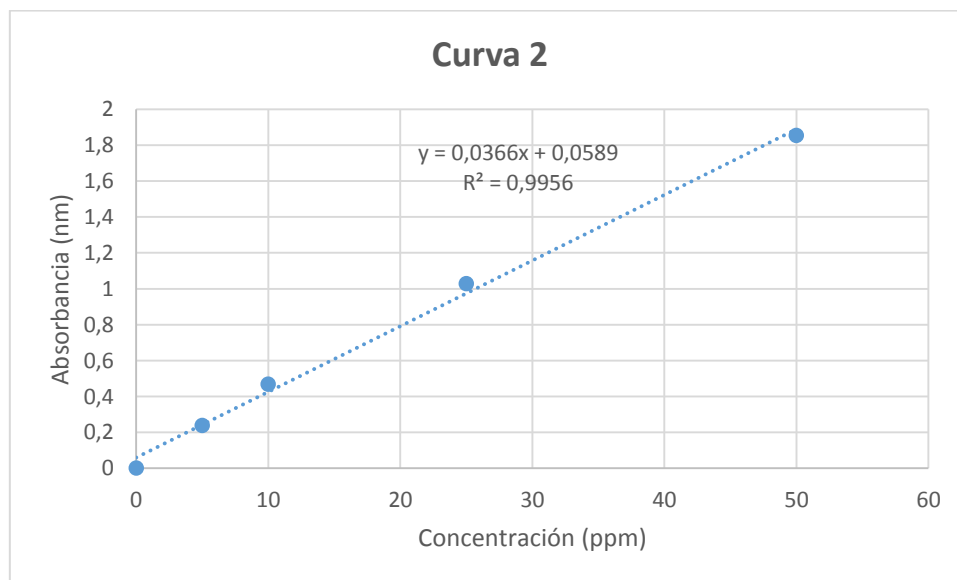




## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS Segunda determinación

Patrones ácido caféico (ppm)	Absorbancia 1 (nm)	Absorbancia 2 (nm)	Absorbancia 3 (nm)	Media	Desviación estándar	Coef. de variación
0	0	0	0	0	0	0
5	0,240	0,237	0,239	0,238	0,001	0,64
10	0,469	0,468	0,470	0,469	0,001	0,21
25	1,025	1,033	1,030	1,029	0,004	0,39
50	1,856	1,854	1,852	1,854	0,002	0,10





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### ANEXO D: Curvas de calibración del ácido caféico por el método de Folin-Ciocalteu.

Resultados de la actividad antioxidante de extractos metanólicos de *Jungia rugosa* Less mediante la técnica DPPH.

CÓDIGO: Wilches 2		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	0,002	0,003	0,004	0,012	0,371	55,32
Absorbancia 1 ( nm)	0,393	0,332	0,285	0,225		
Absorbancia 2 ( nm)	0,4	0,33	0,293	0,221		
Absorbancia 3 ( nm)	0,395	0,339	0,3	0,222		
Media	0,396	0,334	0,293	0,223		
D. Estándar	0,004	0,005	0,008	0,002		
% Coeficiente de variación	0,009	0,014	0,026	0,009		
% Inhibición	-6,19	10,78	22,1	43,12		

CÓDIGO: Wilches 4		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	0,001	0,004	0,007	0,009	0,371	45,71
Absorbancia 1 ( nm)	0,344	0,319	0,278	0,174		
Absorbancia 2 ( nm)	0,34	0,32	0,28	0,18		
Absorbancia 3 ( nm)	0,339	0,322	0,278	0,172		
Media	0,341	0,320	0,279	0,175		
Desviación estándar	0,003	0,002	0,001	0,004		
% Coeficiente de Variación	0,008	0,005	0,004	0,024		
% Inhibición	8,36	14,73	26,77	55,17		



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 113 <span style="float: right;">PARTES DE LA PLANTA: Hojas</span>						
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	-0,002	-0,002	0	0,003	0,345	64,06
Absorbancia 1 ( nm)	0,36	0,316	0,276	0,222		
Absorbancia 2 ( nm)	0,363	0,32	0,273	0,22		
Absorbancia 3 ( nm)	0,356	0,323	0,282	0,228		
Media	0,360	0,320	0,277	0,223		
Desviación Estándar	0,004	0,004	0,005	0,004		
% Coeficiente de variación	0,010	0,011	0,017	0,019		
% Inhibición	-4,92	6,66	19,71	36,23		

CÓDIGO: Wilches 126 <span style="float: right;">PARTES DE LA PLANTA: Hojas</span>						
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	0,002	0,004	0,006	0,011	0,371	53,27
Absorbancia 1 ( nm)	0,366	0,332	0,286	0,215		
Absorbancia 2 ( nm)	0,361	0,329	0,284	0,209		
Absorbancia 3 ( nm)	0,376	0,33	0,288	0,21		
Media	0,368	0,330	0,286	0,211		
Desviación estándar	0,008	0,002	0,002	0,003		
% Coeficiente de variación	0,021	0,005	0,007	0,015		
% Inhibición	1,34	12,12	24,52	46,09		



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 134 PARTES DE LA PLANTA: Hojas						
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila (nm)	0,001	0,001	0,003	0,006	0,331	53,99
Absorbancia 1 ( nm)	0,307	0,288	0,246	0,184		
Absorbancia 2 ( nm)	0,308	0,28	0,25	0,183		
Absorbancia 3 ( nm)	0,312	0,286	0,256	0,182		
Media	0,309	0,285	0,251	0,183		
Desviación estándar	0,003	0,004	0,005	0,001		
% Coeficiente de variación	0,009	0,015	0,020	0,005		
% Inhibición	6,94	14,19	25,07	46,52		

CÓDIGO: Wilches 136 PARTES DE LA PLANTA: Hojas						
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila (nm)	-0,004	-0,004	-0,003	-0,001	0,331	80,25
Absorbancia 1 ( nm)	0,339	0,3	0,263	0,235		
Absorbancia 2 ( nm)	0,345	0,304	0,27	0,244		
Absorbancia 3 ( nm)	0,349	0,309	0,265	0,238		
Media	0,344	0,304	0,266	0,239		
Desviación estándar	0,005	0,005	0,004	0,005		
% Coeficiente de variación	0,015	0,015	0,014	0,019		
% Inhibición	-5,13	6,94	18,73	27,49		



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 141		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	0	0,002	0,003	0,007	0,364	35,40
Absorbancia 1 ( nm)	0,358	0,305	0,264	0,102		
Absorbancia 2 ( nm)	0,356	0,314	0,27	0,097		
Absorbancia 3 ( nm)	0,352	0,309	0,269	0,095		
Media	0,355	0,309	0,268	0,098		
Desviación estándar	0,003	0,005	0,003	0,004		
% Coeficiente de variación	0,009	0,015	0,012	0,037		
% Inhibición	2,47	15,65	27,19	75		

CÓDIGO: Wilches 147		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	0,004	0,007	0,009	0,011	0,357	55,03
Absorbancia 1 ( nm)	0,343	0,329	0,287	0,208		
Absorbancia 2 ( nm)	0,338	0,322	0,285	0,208		
Absorbancia 3 ( nm)	0,336	0,326	0,273	0,198		
Media	0,339	0,326	0,282	0,205		
Desviación estándar	0,004	0,004	0,008	0,006		
% Coeficiente de variación	0,011	0,011	0,027	0,028		
% Inhibición	6,16	10,64	23,52	45,65		



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 163		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	0,001	0	0,002	0,005	0,345	53,91
Absorbancia 1 ( nm)	0,358	0,32	0,287	0,189		
Absorbancia 2 ( nm)	0,355	0,322	0,286	0,182		
Absorbancia 3 ( nm)	0,356	0,33	0,295	0,195		
Media	0,356	0,324	0,289	0,189		
Desviación estándar	0,002	0,005	0,005	0,007		
% Coeficiente de variación	0,004	0,016	0,017	0,034		
% Inhibición	-2,89	6,08	16,81	46,66		

CÓDIGO: Wilches 172		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	0	0,001	0,002	0,005	0,331	41,46
Absorbancia 1 ( nm)	0,305	0,286	0,213	0,15		
Absorbancia 2 ( nm)	0,298	0,276	0,219	0,148		
Absorbancia 3 ( nm)	0,395	0,29	0,21	0,139		
Media	0,333	0,284	0,214	0,146		
Desviación estándar	0,054	0,007	0,005	0,006		
% Coeficiente de variación	0,163	0,025	0,021	0,040		
% Inhibición	-0,6	14,5	35,95	57,4		



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 174		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	-0,001	-0,003	-0,002	0	0,331	40,58
Absorbancia 1 ( nm)	0,306	0,273	0,222	0,131		
Absorbancia 2 ( nm)	0,3	0,283	0,22	0,128		
Absorbancia 3 ( nm)	0,318	0,28	0,218	0,135		
Media	0,308	0,279	0,220	0,131		
Desviación estándar	0,009	0,005	0,002	0,004		
% Coeficiente de variación	0,030	0,018	0,009	0,027		
% Inhibición	6,64	14,8	32,93	60,42		

CÓDIGO: Wilches 187		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	0,001	0,002	0,007	0,007	0,357	31,45
Absorbancia 1 ( nm)	0,339	0,319	0,244	0,127		
Absorbancia 2 ( nm)	0,332	0,312	0,249	0,129		
Absorbancia 3 ( nm)	0,325	0,299	0,247	0,118		
Media	0,332	0,310	0,247	0,125		
Desviacion estándar	0,007	0,010	0,003	0,006		
% Coeficiente de variación	0,021	0,033	0,010	0,047		
% Inhibición	7,28	13,72	32,77	84,59		





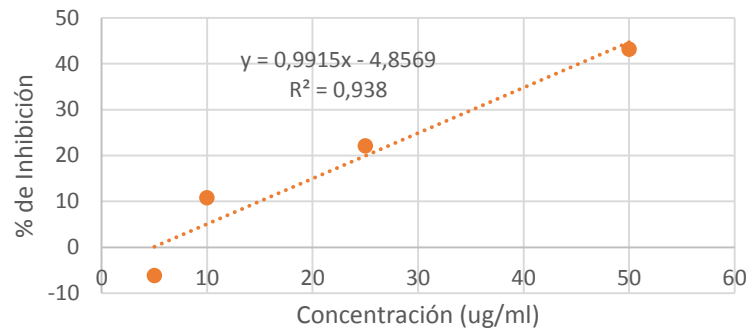
## UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 190		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	0,001	0,002	0,006	0,012	0,364	61,37
Absorbancia 1 ( nm)	0,358	0,333	0,299	0,228		
Absorbancia 2 ( nm)	0,351	0,328	0,305	0,224		
Absorbancia 3 ( nm)	0,354	0,33	0,294	0,23		
Media	0,354	0,330	0,299	0,227		
Desviación estándar	0,004	0,003	0,006	0,003		
% Coeficiente de variación	0,010	0,008	0,018	0,013		
% Inhibición	3,02	9,89	19,5	40,93		

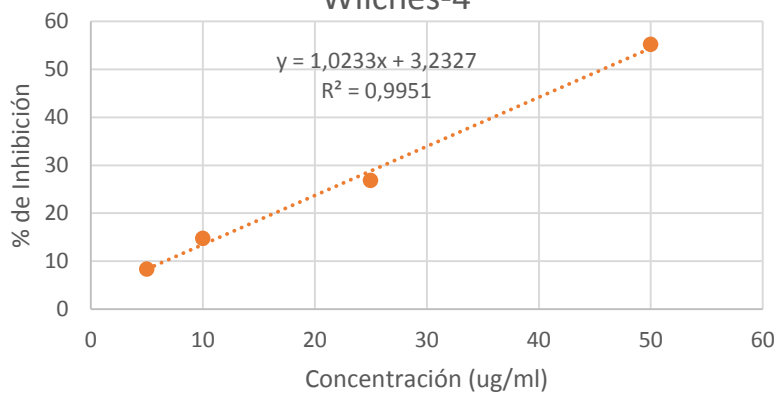


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

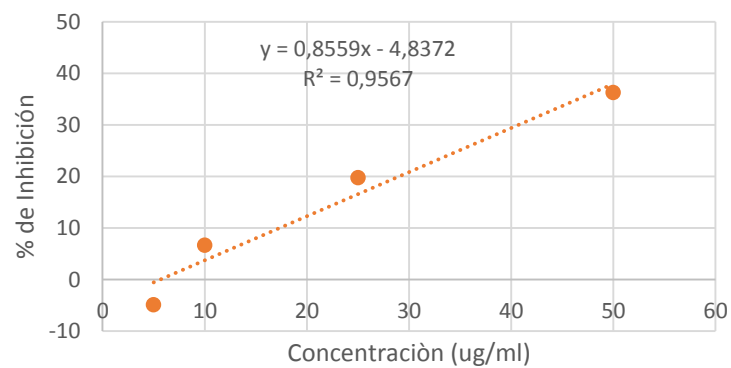
Wilches-2



Wilches-4

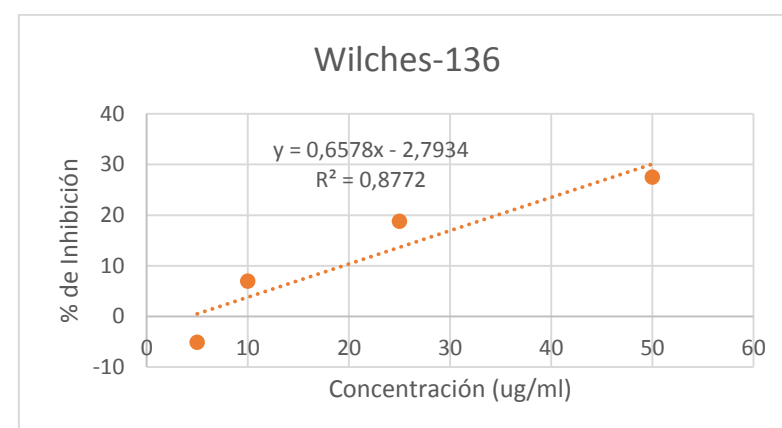
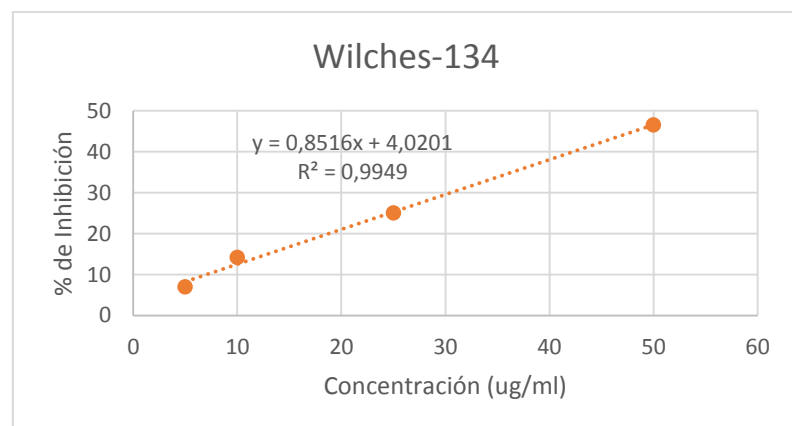
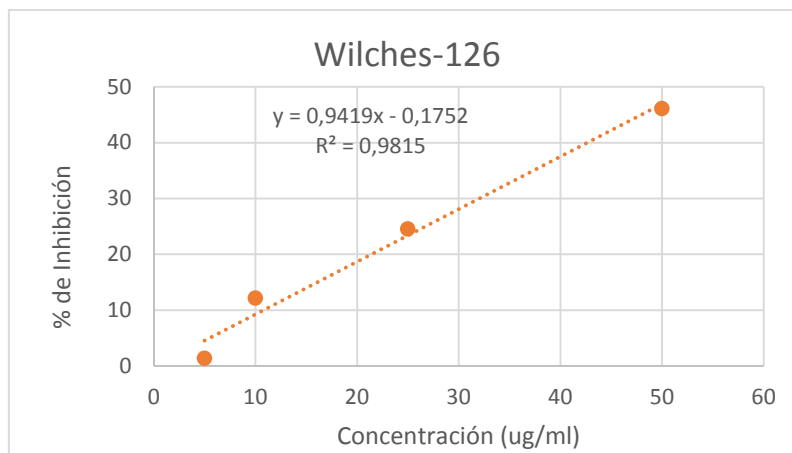


Wilches-113



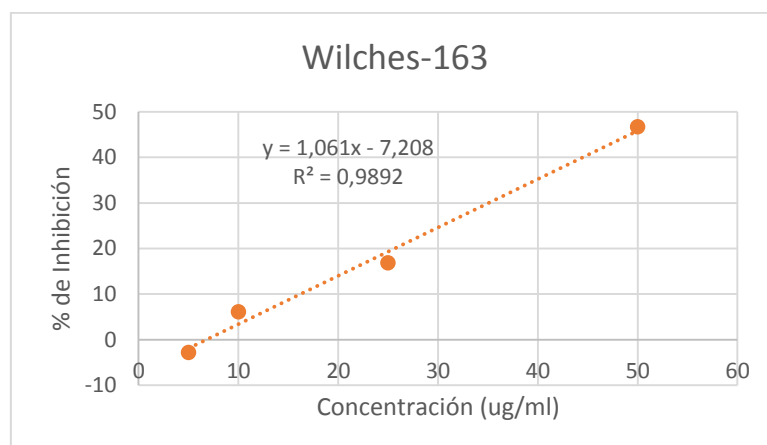
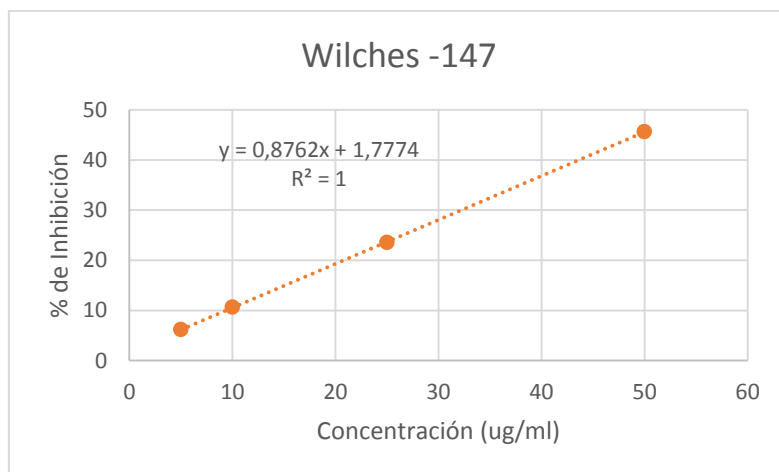
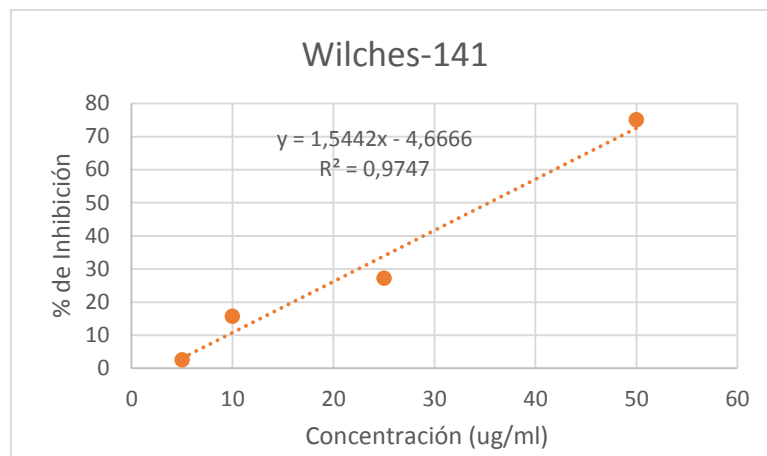


## UNIVERSIDAD DE CUENCA



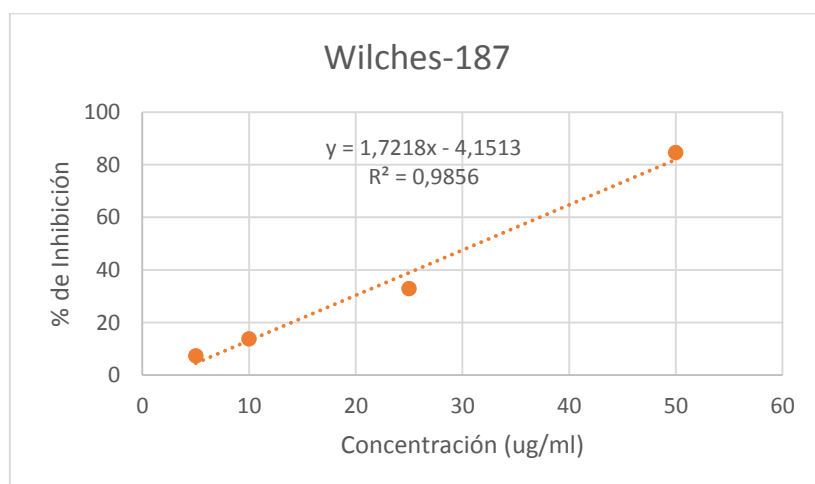
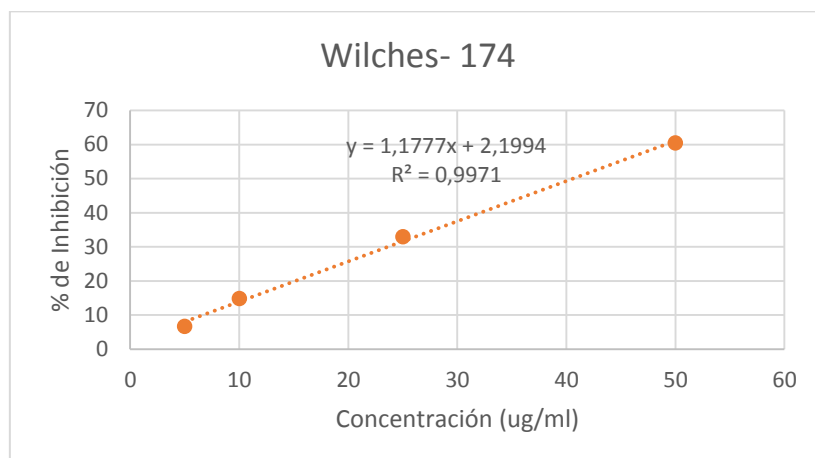
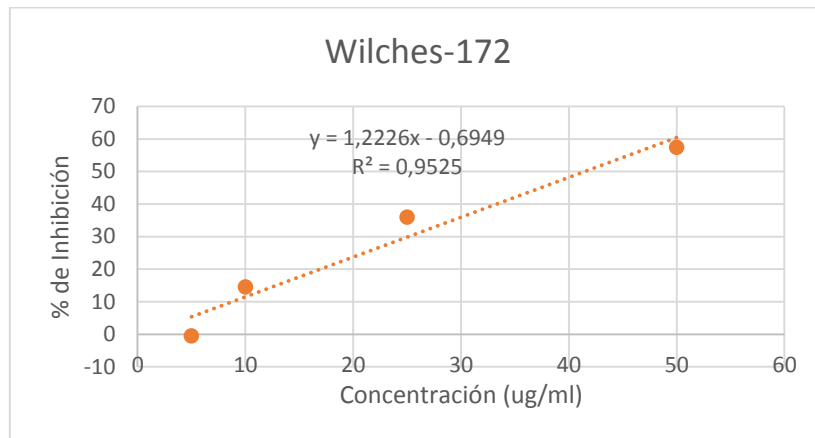


## UNIVERSIDAD DE CUENCA



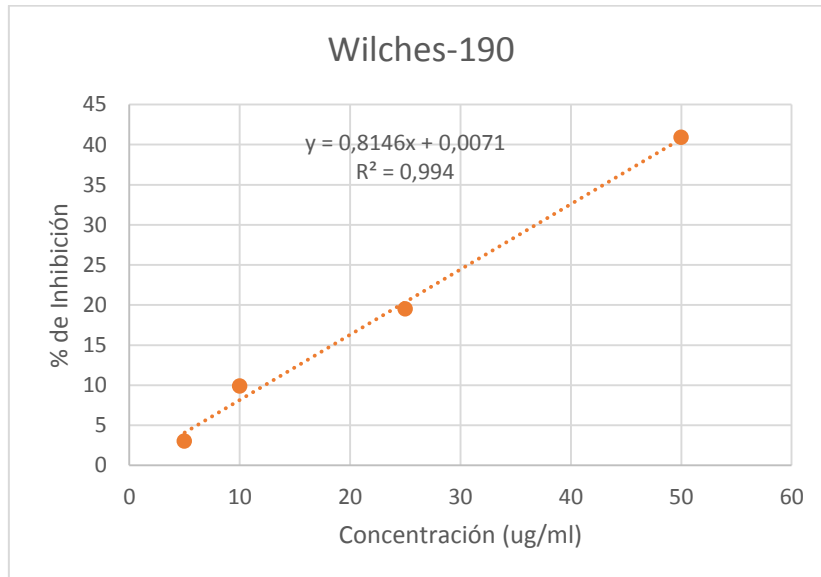


## UNIVERSIDAD DE CUENCA





## UNIVERSIDAD DE CUENCA





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### ANEXO E: Resultados de la actividad antioxidante de extractos metanólicos por el método del DPPH.

#### Resultados de la actividad antioxidante de extractos de diclorometano de *Jungia rugosa* Less mediante la técnica DPPH.

CÓDIGO: Wilches 2		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila (nm)	0,001	0,004	0,004	0,012	0,357	241
Absorbancia 1 (nm)	0,342	0,349	0,341	0,328		
Absorbancia 2 (nm)	0,35	0,346	0,337	0,322		
Absorbancia 3 (nm)	0,353	0,339	0,347	0,326		
Media	0,348	0,345	0,342	0,325		
Desviación estándar	0,006	0,005	0,005	0,003		
% Coeficiente de variación	0,016	0,015	0,015	0,009		
% Inhibición	2,71	4,58	5,42	12,23		

CÓDIGO: Wilches 4		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila (nm)	0,005	0,006	0,009	0,019	0,335	153,36
Absorbancia 1 ( nm)	0,343	0,324	0,31	0,3		
Absorbancia 2 ( nm)	0,34	0,326	0,32	0,308		
Absorbancia3 ( nm)	0,352	0,338	0,316	0,306		
Media	0,345	0,329	0,315	0,305		
Desviación estándar	0,006	0,008	0,005	0,004		
% Coeficiente de Variación	0,018	0,023	0,016	0,014		
% Inhibición	-1,49	3,48	8,56	14,73		



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 113		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila (nm)	0	0,001	0,003	0,009	0,345	227,35
Absorbancia 1 ( nm)	0,345	0,337	0,33	0,317		
Absorbancia 2 ( nm)	0,348	0,338	0,331	0,323		
Absorbancia 3 ( nm)	0,358	0,34	0,335	0,322		
Media	0,350	0,338	0,332	0,321		
Desviación estándar	0,007	0,002	0,003	0,003		
% Coeficiente de variación	0,019	0,005	0,008	0,010		
% Inhibición	-1,55	2,22	4,64	9,66		

CÓDIGO: Wilches 126		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	0,002	0,005	0,01	0,019	0,335	135,6
Absorbancia 1 ( nm)	0,375	0,353	0,336	0,319		
Absorbancia 2 ( nm)	0,367	0,354	0,338	0,312		
Absorbancia 3 ( nm)	0,374	0,343	0,326	0,318		
Media	0,372	0,350	0,333	0,316		
Desviación estándar	0,004	0,006	0,006	0,004		
% Coeficiente de variación	0,012	0,017	0,019	0,012		
% Inhibición	-10,45	-2,99	3,48	11,24		





# UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 134		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila ( nm)	-0,012	-0,007	-0,002	0,006	0,302	141,4
Absorbancia 1 ( nm)	0,304	0,288	0,286	0,266		
Absorbancia 2 ( nm)	0,301	0,291	0,288	0,264		
Absorbancia 3 ( nm)	0,299	0,292	0,279	0,259		
Media	0,301	0,290	0,284	0,263		
Desviación estándar	0,003	0,002	0,005	0,004		
% Coeficiente de variación	0,008	0,007	0,017	0,014		
% Inhibición	-3,75	1,55	5,19	14,90		

CÓDIGO: Wilches 136		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	-0,008	-0,01	-0,006	-0,004	0,302	169,13
Absorbancia 1 ( nm)	0,289	0,265	0,255	0,249		
Absorbancia 2 ( nm)	0,283	0,263	0,253	0,246		
Absorbancia 3 ( nm)	0,275	0,269	0,258	0,244		
Media	0,282	0,266	0,255	0,246		
Desviación estándar	0,007	0,003	0,003	0,003		
% Coeficiente de variación	0,025	0,011	0,010	0,010		
% Inhibición	3,86	8,72	13,47	17,11		



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 141					PARTES DE LA PLANTA: Hojas	
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	-0,014	-0,012	-0,008	0,001	0,338	262,13
Absorbancia 1 ( nm)	0,35	0,347	0,338	0,331		
Absorbancia 2 ( nm)	0,347	0,34	0,336	0,329		
Absorbancia 3 ( nm)	0,356	0,341	0,332	0,33		
Media	0,351	0,343	0,335	0,330		
Desviación estándar	0,005	0,004	0,003	0,001		
% Coeficiente de variación	0,013	0,011	0,009	0,003		
% Inhibición	-7,99	-4,93	-1,58	2,66		

CÓDIGO: Wilches 147					PARTES DE LA PLANTA: Hojas	
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	-0,013	-0,012	-0,003	0,007	0,338	217,15
Absorbancia 1 ( nm)	0,349	0,346	0,337	0,329		
Absorbancia 2 ( nm)	0,344	0,342	0,341	0,327		
Absorbancia 3 ( nm)	0,338	0,341	0,335	0,318		
Media	0,344	0,343	0,338	0,325		
Desviación estándar	0,006	0,003	0,003	0,006		
% Coeficiente de variación	0,016	0,008	0,009	0,018		
% Inhibición	-5,52	-5,03	-0,79	6,02		



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 163					PARTES DE LA PLANTA: Hojas	
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	-0,001	0,001	0,006	0,013	0,345	170,45
Absorbancia 1 ( nm)	0,342	0,333	0,328	0,309		
Absorbancia 2 ( nm)	0,35	0,339	0,328	0,308		
Absorbancia 3 ( nm)	0,346	0,341	0,322	0,318		
Media	0,346	0,338	0,326	0,312		
Desviación estándar	0,004	0,004	0,003	0,006		
% Coeficiente de variación	0,012	0,012	0,011	0,018		
% Inhibición	-0,58	2,42	7,25	13,43		

CÓDIGO: Wilches 172					PARTES DE LA PLANTA: Hojas	
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	-0,012	-0,011	-0,009	-0,006	0,302	214,53
Absorbancia 1 ( nm)	0,29	0,285	0,274	0,268		
Absorbancia 2 ( nm)	0,289	0,286	0,276	0,265		
Absorbancia 3 ( nm)	0,296	0,289	0,276	0,261		
Media	0,292	0,287	0,275	0,265		
Desviación estándar	0,004	0,002	0,001	0,004		
% Coeficiente de variación	0,013	0,007	0,004	0,013		
% Inhibición	-0,55	1,43	5,85	10,38		



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 174		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	-0,021	-0,02	-0,017	0,012	0,302	128,54
Absorbancia 1 ( nm)	0,307	0,298	0,282	0,274		
Absorbancia 2 ( nm)	0,31	0,295	0,284	0,275		
Absorbancia 3 ( nm)	0,31	0,295	0,287	0,275		
Media	0,309	0,296	0,284	0,275		
Desviación estándar	0,002	0,002	0,003	0,001		
% Coeficiente de variación	0,006	0,006	0,009	0,002		
% Inhibición	-9,27	-4,64	0,22	13,02		

CÓDIGO: Wilches 187		PARTES DE LA PLANTA: Hojas				
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC 50 (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	-0,011	-0,008	0,003	0,022	0,338	139,05
Absorbancia 1 ( nm)	0,337	0,33	0,317	0,31		
Absorbancia 2 ( nm)	0,331	0,328	0,321	0,308		
Absorbancia 3 ( nm)	0,324	0,324	0,32	0,299		
Media	0,331	0,327	0,319	0,306		
Desviación estándar	0,007	0,003	0,002	0,006		
% Coeficiente de variación	0,020	0,009	0,007	0,019		
% Inhibición	-1,08	0,79	6,41	16,07		

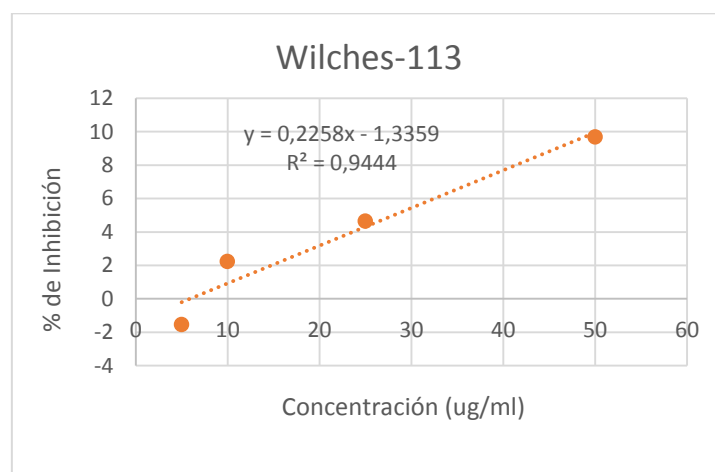
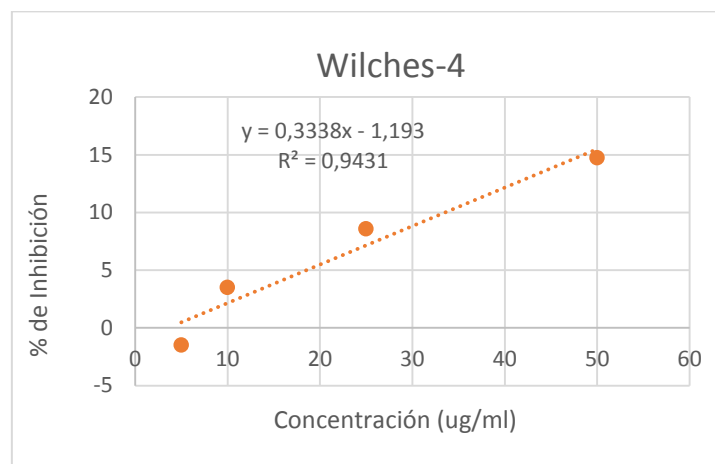
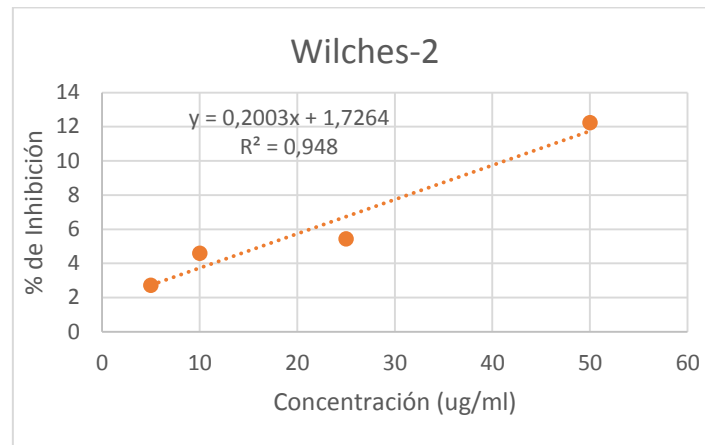


# UNIVERSIDAD DE CUENCA

CÓDIGO: Wilches 190					PARTES DE LA PLANTA: Hojas	
Concentración (ug/ml)	5	10	25	50	Absorbancia control (nm)	IC <sub>50</sub> (ug/ml)
Absorbancia de la clorofila( nm)	-0,014	-0,007	-0,005	0,02	0,338	153,64
Absorbancia 1 ( nm)	0,337	0,334	0,332	0,312		
Absorbancia 2 ( nm)	0,338	0,334	0,329	0,31		
Absorbancia 3 ( nm)	0,34	0,335	0,329	0,32		
Media	0,338	0,334	0,330	0,314		
Desviación estándar	0,002	0,001	0,002	0,005		
% Coeficiente de variación	0,005	0,002	0,005	0,017		
% Inhibición	-4,24	-0,99	0,89	13,02		

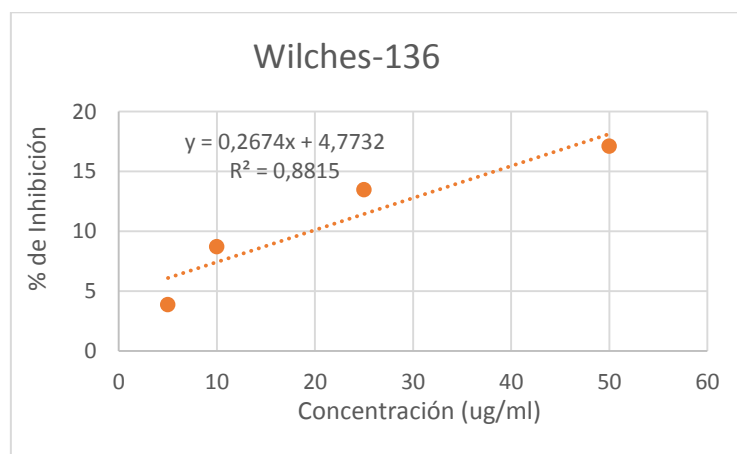
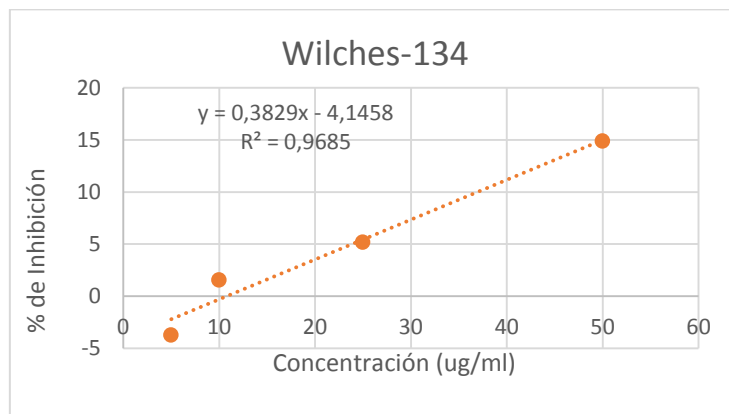
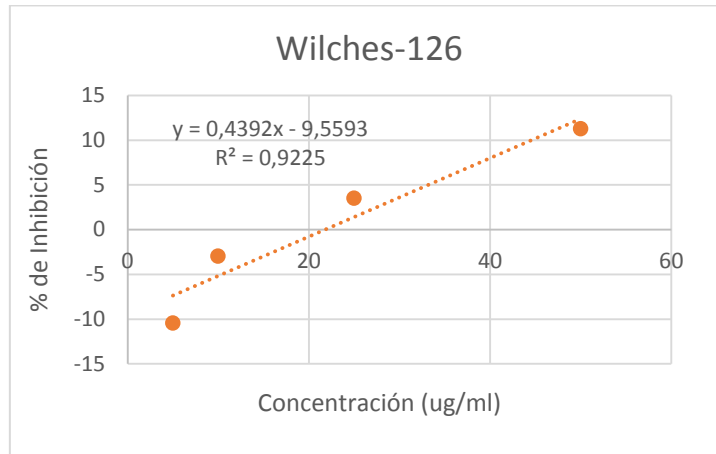


## UNIVERSIDAD DE CUENCA



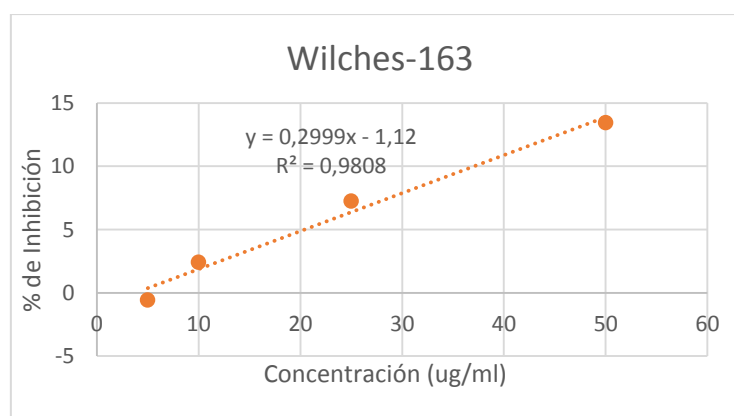
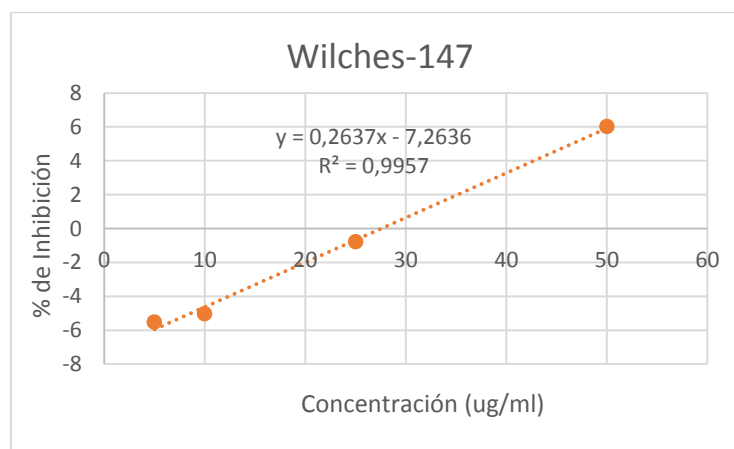
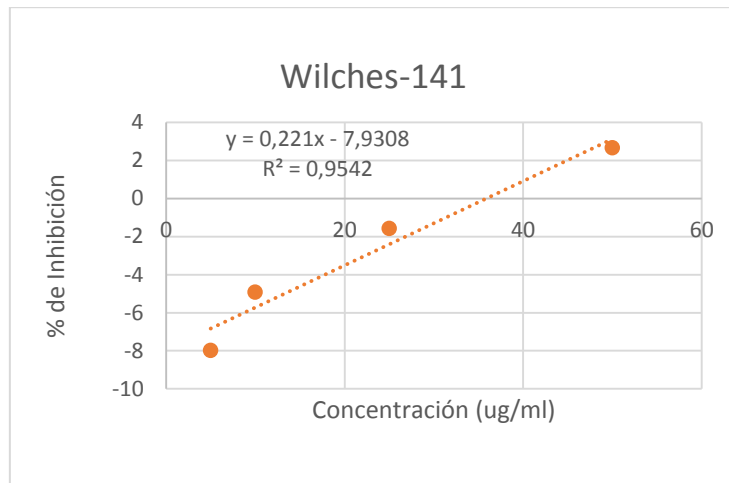


## UNIVERSIDAD DE CUENCA





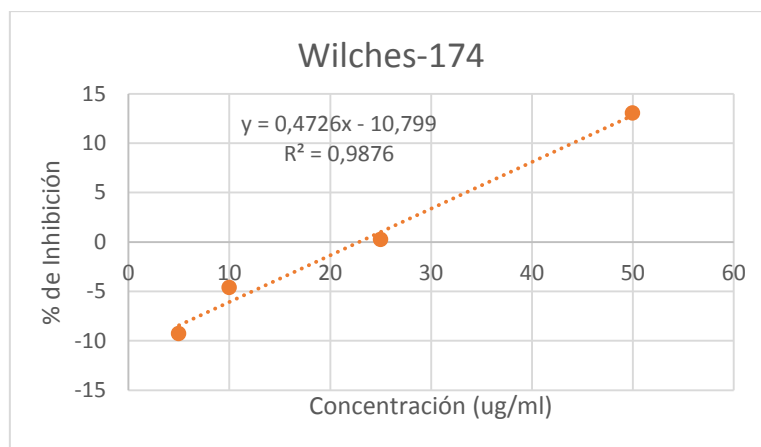
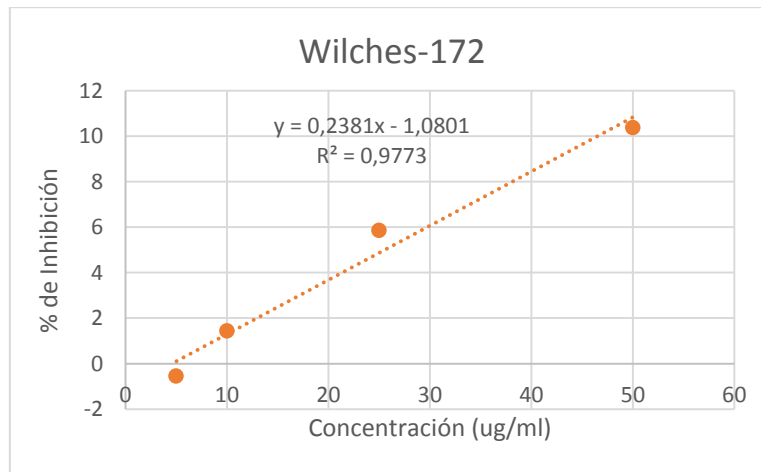
## UNIVERSIDAD DE CUENCA





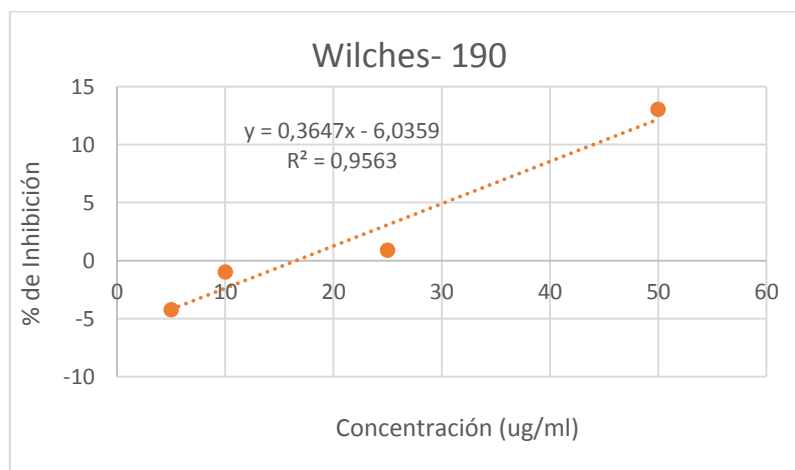
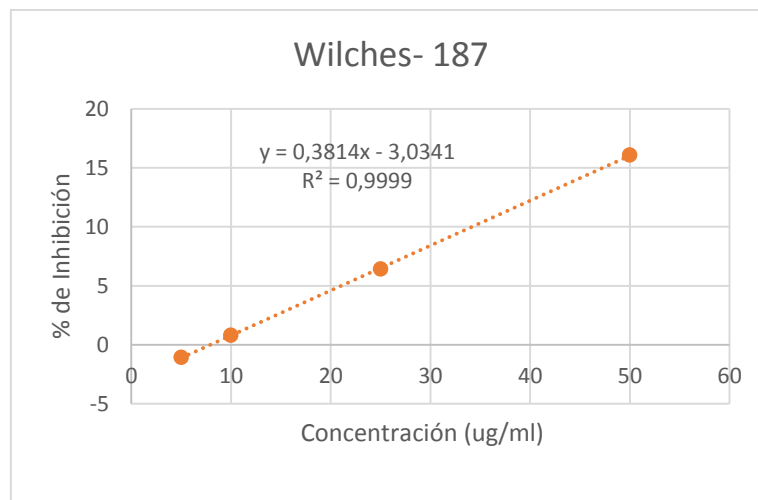


## UNIVERSIDAD DE CUENCA





## UNIVERSIDAD DE CUENCA





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### ANEXO F: Resultados de la actividad antioxidante de extractos metanólicos por el método del DPPH.

#### Resultados de la actividad antioxidante de extractos metanólicos de Jungia rugosa Less mediante la técnica del Poder Reductor.

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	2					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	<b>0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>200</b>
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,035	0,044	0,05	0,064	0,159	0,249
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,034	0,039	0,049	0,062	0,164	0,25
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,032	0,038	0,046	0,062	0,165	0,249
<b>Media</b>	0,033666667	0,040333333	0,048333333	0,062666667	0,162666667	0,249333333
<b>Des. Estándar</b>	0,001527525	0,00321455	0,00208167	0,0011547	0,00321455	0,00057735
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,033666667	0,006666667	0,014666667	0,029	0,129	0,215666667
<b>Coef. Variación</b>	4,537203658	7,96995931	4,30689517	1,84260724	1,97615794	0,23155759
<b>IC50 (µg/ml)</b>	45,45					

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	4					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	<b>0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>200</b>
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,043	0,052	0,064	0,088	0,139	0,232
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,043	0,056	0,064	0,089	0,141	0,229
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,042	0,056	0,069	0,091	0,139	0,232
<b>Media</b>	0,042666667	0,054666667	0,065666667	0,089333333	0,139666667	0,231
<b>Des. Estándar</b>	0,00057735	0,0023094	0,00288675	0,00152753	0,0011547	0,00173205
<b>Lecturas corregidas (nm)</b>	0,042666667	0,012	0,023	0,046666667	0,097	0,188333333
<b>Coef. variación</b>	1,353164693	4,22451416	4,39606804	1,7099163	0,82675456	0,74980554
<b>IC50 (µg/ml)</b>	62,48					



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	113					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,037	0,035	0,057	0,087	0,121	0,26
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,042	0,041	0,058	0,083	0,121	0,251
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,044	0,043	0,052	0,086	0,124	0,267
<b>Media</b>	0,041	0,03966667	0,05566667	0,08533333	0,122	0,25933333
<b>Des. Estándar</b>	0,003605551	0,00416333	0,00321455	0,00208167	0,00173205	0,00802081
<b>Lecturas corregidas</b>	0,041	0,00133333	0,01466667	0,04433333	0,081	0,21833333
<b>Coef.variación</b>	0,087940275	0,10495795	5,77464117	2,43945234	1,41971378	3,09285589
<b>Ic50 (µg/ml)</b>	49,99					

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	126					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,035	0,031	0,031	0,08	0,142	0,221
<b>Absorbancia2(nm)</b>	0,035	0,04	0,04	0,084	0,139	0,22
<b>Absorbancia3(nm)</b>	0,03	0,031	0,038	0,083	0,14	0,218
<b>Media</b>	0,033333333	0,034	0,03633333	0,08233333	0,14033333	0,21966667
<b>Des. Estándar</b>	0,002886751	0,00519615	0,00472582	0,00208167	0,00152753	0,00152753
<b>Lecturas corregidas (nm)</b>	0,033333333	0,00066667	0,003	0,049	0,107	0,18633333
<b>Coef. Variación</b>	8,660254038	15,2828012	13,006832	2,52833927	1,08849779	0,69538326
<b>IC50 (µg/ml)</b>	55,55					



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO</b>	134					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,045	0,034	0,064	0,095	0,145	0,297
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,045	0,036	0,063	0,097	0,155	0,316
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,042	0,037	0,068	0,096	0,167	0,318
<b>Media</b>	0,044	0,03566667	0,065	0,096	0,15566667	0,31033333
<b>Des. estándar</b>	0,001732051	0,00152753	0,00264575	0,001	0,01101514	0,01159023
<b>Lecturas corregidas (nm)</b>	0,044	0,00833333	0,021	0,052	0,11166667	0,26633333
<b>Coef. Variación</b>	3,936479108	4,28278102	4,07038663	1,04166667	7,07610777	3,73476663
<b>IC50 (µg/ml)</b>	38,46					

<b>CÓDIGO EXTRACTO</b>	136					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>		10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,032	0,042	0,061	0,081	0,145	0,239
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,037	0,043	0,06	0,079	0,149	0,235
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,034	0,043	0,052	0,078	0,151	0,234
<b>Media</b>	0,03433333	0,04266667	0,05766667	0,07933333	0,14833333	0,236
<b>Des. Estándar</b>	0,002516611	0,00057735	0,00493288	0,00152753	0,00305505	0,00264575
<b>Lecturas corregidas</b>	0,03433333	0,00833333	0,02333333	0,045	0,114	0,20166667
<b>Coef.variación</b>	7,329936345	1,35316469	8,55413213	1,92545197	2,05958458	1,12108106
<b>IC50 (µg/ml)</b>	50					



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	141					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,049	0,065	0,086	0,106	0,179	0,286
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,05	0,066	0,084	0,107	0,178	0,286
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,049	0,068	0,084	0,107	0,179	0,288
<b>Media</b>	0,049333333	0,06633333	0,08466667	0,10666667	0,17866667	0,28666667
<b>Des. Estándar</b>	0,00057735	0,00152753	0,0011547	0,00057735	0,00057735	0,0011547
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,049333333	0,017	0,03533333	0,05733333	0,12933333	0,23733333
<b>Coef.variacion</b>	1,1703046	2,30280186	1,36381953	0,54126588	0,32314381	0,40280251
<b>IC50 (µg/ml)</b>	45,43					

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	147					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,035	0,055	0,089	0,099	0,162	0,301
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,034	0,054	0,087	0,1	0,157	0,299
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,034	0,055	0,088	0,102	0,165	0,302
<b>Media</b>	0,034333333	0,05466667	0,088	0,10033333	0,16133333	0,30066667
<b>Des. Estándar</b>	0,00057735	0,00057735	0,001	0,00152753	0,00404145	0,00152753
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,034333333	0,02033333	0,05366667	0,066	0,127	0,26633333
<b>Coef. Variación</b>	1,681602726	1,05612854	1,13636364	1,5224504	2,50503216	0,50804609
<b>Ic50 (µg/ml)</b>	41,65					



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO</b>	163					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,027	0,036	0,065	0,089	0,112	0,225
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,024	0,031	0,062	0,086	0,128	0,232
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,028	0,037	0,057	0,089	0,124	0,239
<b>Media</b>	0,026333333	0,03466667	0,06133333	0,088	0,12133333	0,232
<b>Des. Estándar</b>	0,002081666	0,00321455	0,00404145	0,00173205	0,00832666	0,007
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,026333333	0,00833333	0,035	0,06166667	0,095	0,20566667
<b>Coef.variación</b>	7,905060757	9,27274112	6,58932372	1,96823955	6,86263516	3,01724138
<b>IC50 (µg/ml)</b>	55,54					

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	172					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,045	0,034	0,063	0,082	0,202	0,358
<b>Absorbancia 2 (nm)</b>	0,045	0,037	0,062	0,089	0,199	0,353
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,042	0,032	0,069	0,094	0,197	0,352
<b>Media</b>	0,044	0,03433333	0,06466667	0,08833333	0,19933333	0,35433333
<b>Des. Estándar</b>	0,001732051	0,00251661	0,00378594	0,00602771	0,00251661	0,00321455
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,044	0,00966667	0,02066667	0,04433333	0,15533333	0,31033333
<b>Coef. Variación</b>	3,936479108	7,32993634	5,85454469	6,82382691	1,26251412	0,9072108
<b>IC50 (µg/ml)</b>	33,33					



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	174					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>		10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,039	0,039	0,059	0,087	0,137	0,239
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,039	0,04	0,058	0,089	0,136	0,234
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,04	0,041	0,06	0,09	0,138	0,23
<b>Media</b>	0,039333333	0,04	0,059	0,08866667	0,137	0,23433333
<b>Des. Estándar</b>	0,00057735	0,001	0,001	0,00152753	0,001	0,00450925
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,039333333	0,00066667	0,01966667	0,04933333	0,09766667	0,195
<b>Coef.variación</b>	1,467839667	2,5	1,69491525	1,72277282	0,72992701	1,92428866
<b>IC50 (µg/ml)</b>	50					

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	187					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,043	0,065	0,089	0,1	0,174	0,275
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,042	0,067	0,088	0,1	0,174	0,274
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,042	0,067	0,089	0,102	0,175	0,275
<b>Media</b>	0,042333333	0,06633333	0,08866667	0,10066667	0,17433333	0,27466667
<b>Des. Estándar</b>	0,00057735	0,0011547	0,00057735	0,0011547	0,00057735	0,00057735
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,042333333	0,024	0,04633333	0,05833333	0,132	0,23233333
<b>Coef. variación</b>	1,363819534	1,74075458	0,65114692	1,14705351	0,33117606	0,21020034
<b>IC50 (µg/ml)</b>	49,97					





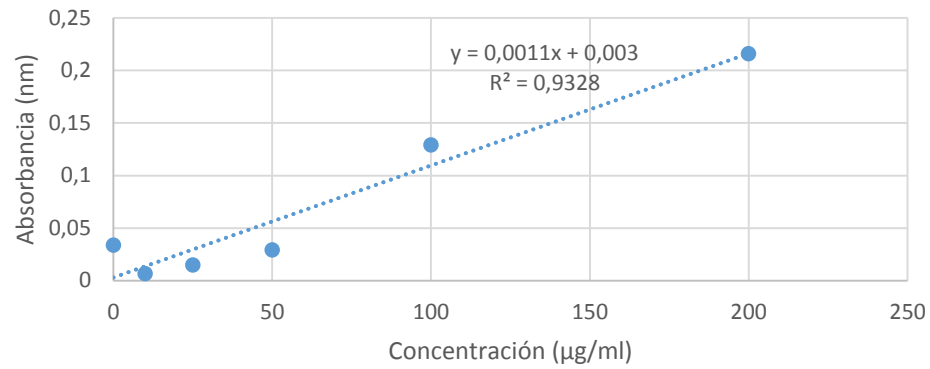
## UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	190					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,031	0,029	0,049	0,052	0,075	0,115
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,032	0,034	0,044	0,052	0,071	0,114
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,031	0,034	0,044	0,05	0,073	0,115
<b>Media</b>	0,031333333	0,03233333	0,04566667	0,05133333	0,073	0,11466667
<b>Des. Estándar</b>	0,00057735	0,00288675	0,00288675	0,0011547	0,002	0,00057735
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,031333333	0,001	0,01433333	0,02	0,04166667	0,08333333
<b>Coef. variación</b>	1,842607242	8,92809695	6,32135331	2,24941663	2,73972603	0,50350314
<b>IC50 (µg/ml)</b>	166,63					

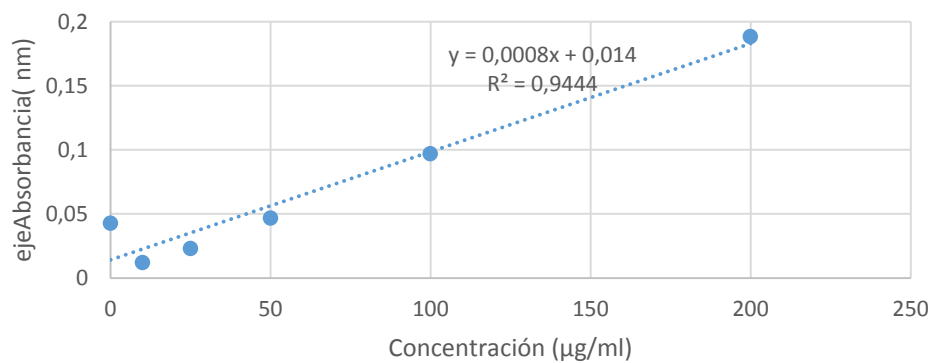


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

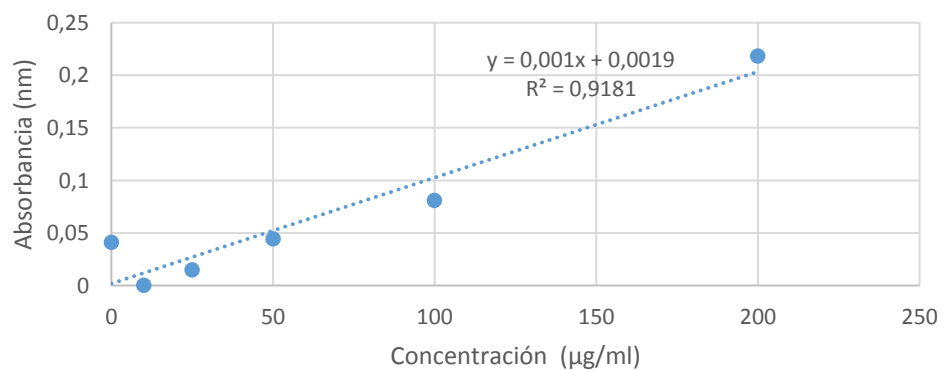
### EXTRACTO 2



### EXTRACTO 4



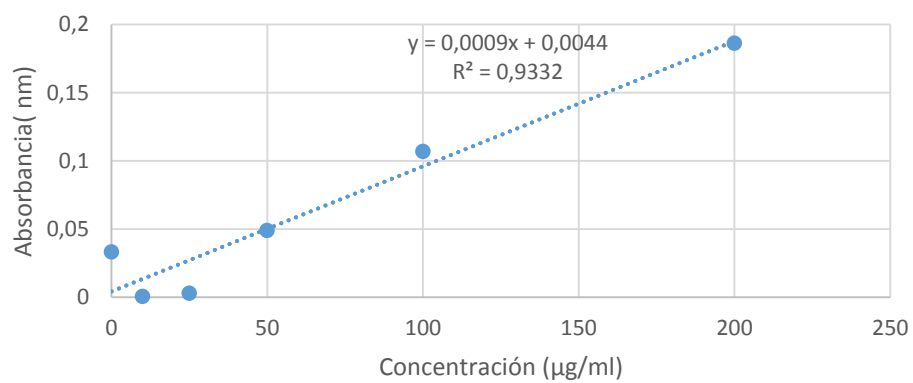
### EXTRACTO 113



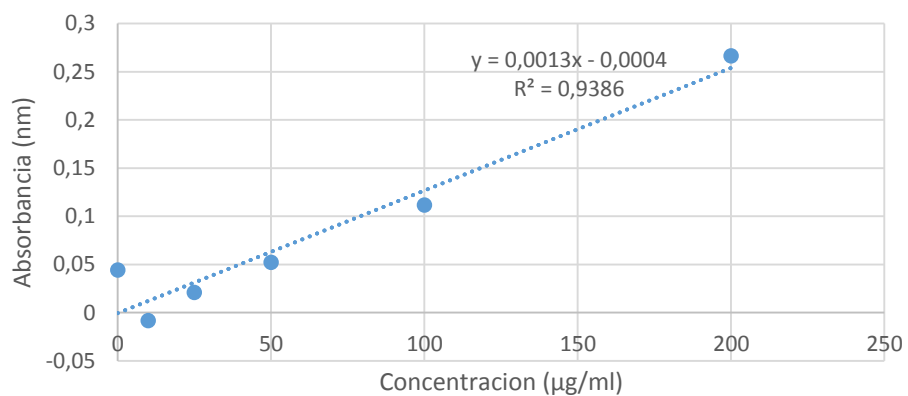


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

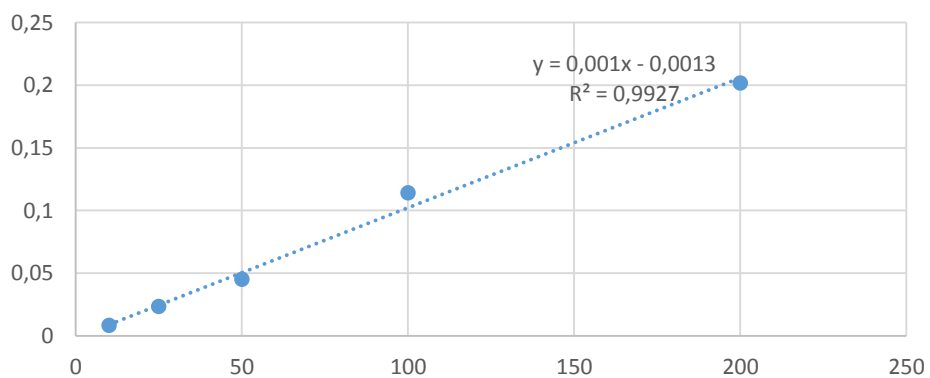
EXTRACTO 126



EXTRACTO 134



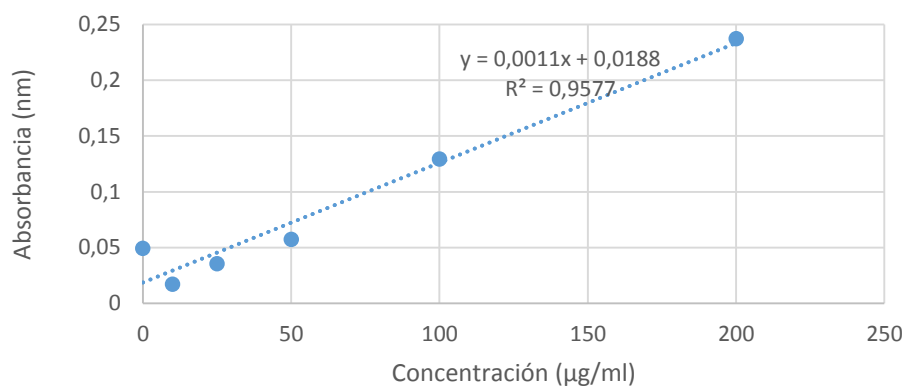
EXTRACTO 136



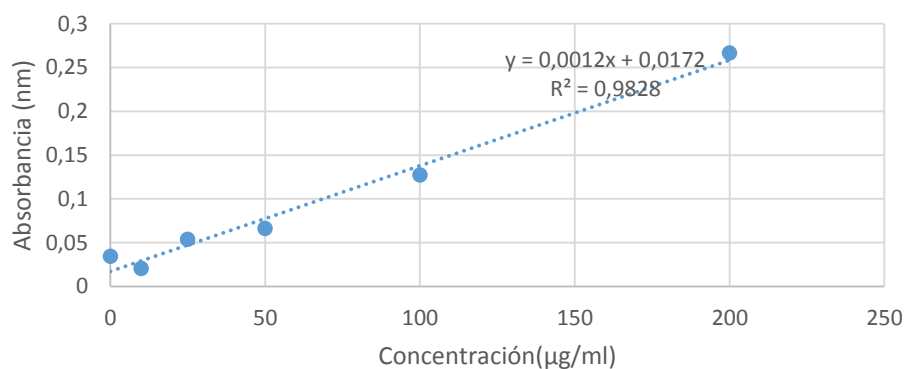


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

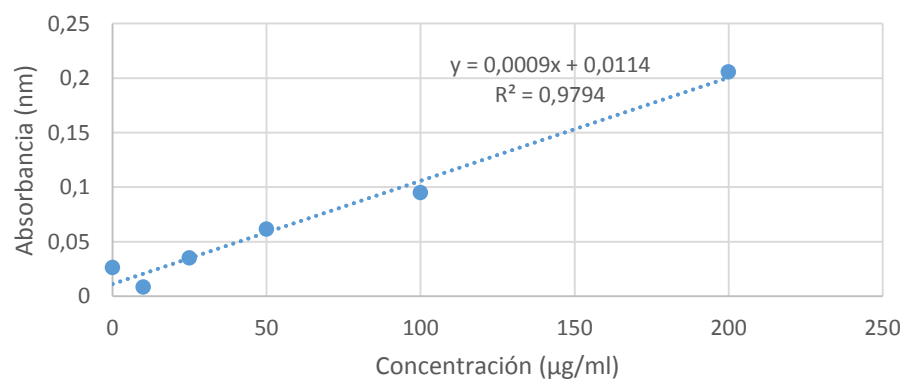
### EXTRACTO 141



### EXTRACTO 147



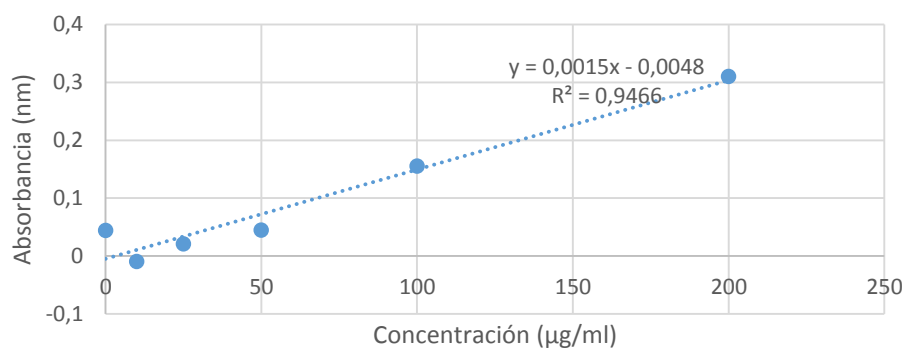
### EXTRACTO 163



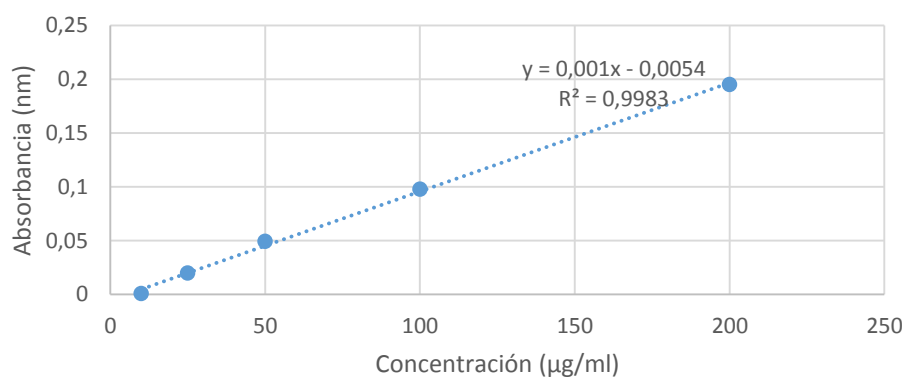


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

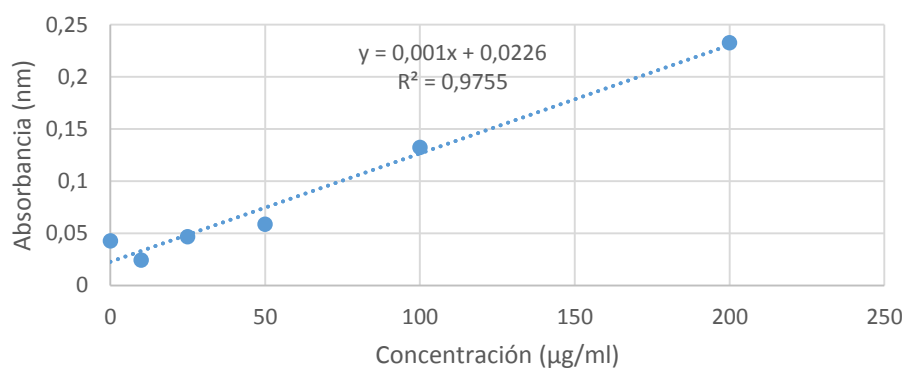
### EXTRACTO 172



### EXTRACTO 174

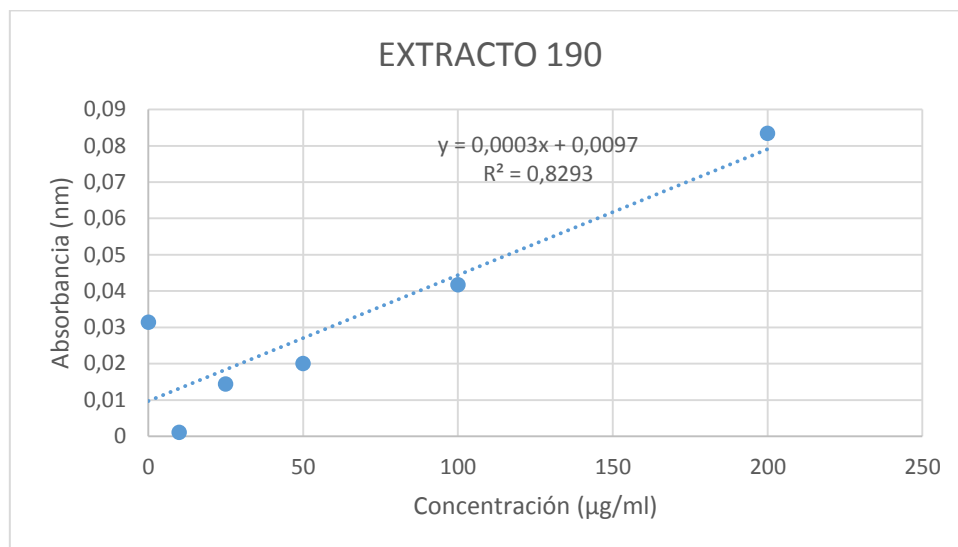


### EXTRACTO 187





UNIVERSIDAD DE CUENCA





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### ANEXO G Resultados de la actividad antioxidante de extractos metanólicos por el método del Poder Reductor.

#### Resultados de la actividad antioxidante de extractos de diclorometano de Jungia rugosa Less mediante la técnica del poder reductor.

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	2					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia1(nm)</b>	0,035	0,034	0,046	0,079	0,115	0,229
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,034	0,036	0,048	0,072	0,115	0,225
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,032	0,035	0,049	0,072	0,111	0,229
<b>Media</b>	0,033666667	0,035	0,047666667	0,074333333	0,113666667	0,227666667
<b>Des. Estándar</b>	0,001527525	0,001	0,001527525	0,004041452	0,002309401	0,002309401
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,033666667	0,001333333	0,014	0,040666667	0,08	0,194
<b>Coef.variación</b>	0,045372037	0,028571429	0,032045984	0,054369308	0,020317312	0,010143782
<b>Ic50 (µg/ml)</b>	55,55					

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	4					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia1(nm)</b>	0,033	0,038	0,044	0,079	0,117	0,212
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,033	0,036	0,044	0,081	0,113	0,217
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,032	0,039	0,043	0,081	0,119	0,212
<b>Media</b>	0,032666667	0,037666667	0,043666667	0,080333333	0,116333333	0,213666667
<b>Des. estándar</b>	0,00057735	0,001527525	0,00057735	0,001154701	0,00305505	0,002886751
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,032666667	-0,036139141	0,011	0,047666667	0,083666667	0,181
<b>Coef. variación</b>	0,017673988	0,040553767	0,013221762	0,014373866	0,026261179	0,013510537
<b>Ic50 (µg/ml)</b>	50,02					



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO</b>	113					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia1(nm)</b>	0,034	0,035	0,047	0,068	0,097	0,161
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,033	0,031	0,048	0,068	0,099	0,161
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,033	0,033	0,048	0,067	0,098	0,167
<b>Media</b>	0,033333333	0,033	0,047666667	0,067666667	0,098	0,163
<b>Des. estándar</b>	0,00057735	0,002	0,00057735	0,00057735	0,001	0,003464102
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,033333333	-0,000333333	0,014333333	0,034333333	0,064666667	0,129666667
<b>Coef. variación</b>	0,017320508	0,060606061	0,012112243	0,00853227	0,010204082	0,021252157
<b>IC50 (µg/ml)</b>	83,31					

<b>CÓDIGO EXTRACTO</b>	126					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,045	0,033	0,046	0,09	0,148	0,251
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,045	0,034	0,048	0,094	0,149	0,252
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,043	0,033	0,048	0,093	0,144	0,254
<b>Media</b>	0,044333333	0,033333333	0,047333333	0,092333333	0,147	0,252333333
<b>Des. estándar</b>	0,001154701	0,00057735	0,001414214	0,002081666	0,002645751	0,001527525
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,044333333	-0,011	0,003	0,05	0,102666667	0,208
<b>Coef. variación</b>	0,026045877	0,017320508	0,029877751	0,022545119	0,017998308	0,006053601
<b>IC50 (µg/ml)</b>	49,99					





# UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO</b>	134					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,034	0,049	0,055	0,068	0,097	0,136
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,032	0,042	0,058	0,067	0,092	0,138
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,034	0,043	0,056	0,069	0,097	0,138
<b>Media</b>	0,033333333	0,044666667	0,056333333	0,068	0,095333333	0,137333333
<b>Des. estándar</b>	0,001154701	0,003785939	0,001527525	0,001	0,002886751	0,001154701
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,033333333	0,011333333	0,023	0,034666667	0,062	0,104
<b>Coef. variación</b>	0,034641016	0,084759826	0,027115833	0,014705882	0,030280609	0,008408014
<b>IC50 (µg/ml)</b>	124,95					

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	136					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,032	0,036	0,056	0,105	0,155	0,239
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,032	0,037	0,054	0,109	0,159	0,239
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,034	0,036	0,052	0,108	0,156	0,239
<b>Media</b>	0,032666667	0,036333333	0,054	0,107333333	0,156666667	0,239
<b>Des. estándar</b>	0,001154701	0,00057735	0,002	0,002081666	0,002081666	0
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,032666667	0,003666667	0,021333333	0,074666667	0,124	0,206333333
<b>Coef. variación</b>	0,035347976	0,015890374	0,037037037	0,019394404	0,01328723	0
<b>IC50 (µg/ml)</b>	49,98					



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	141					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,034	0,042	0,058	0,104	0,156	0,216
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,032	0,041	0,058	0,103	0,158	0,216
<b>Absorbancia3(nm)</b>	0,035	0,042	0,059	0,103	0,159	0,206
<b>Media</b>	0,033666667	0,041666667	0,058333333	0,103333333	0,157666667	0,212666667
<b>Des. estándar</b>	0,001527525	0,00057735	0,00057735	0,00057735	0,001527525	0,005773503
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,033666667	0,008	0,024666667	0,069666667	0,124	0,179
<b>Coef. variación</b>	0,045372037	0,013856406	0,009897433	0,005587261	0,009688321	0,027148132
<b>IC50 (µg/ml)</b>	62,47					

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	147					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia1(nm)</b>	0,041	0,046	0,054	0,092	0,134	0,194
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,041	0,044	0,057	0,093	0,137	0,197
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,043	0,046	0,058	0,092	0,134	0,199
<b>Media</b>	0,041666667	0,045333333	0,056333333	0,092333333	0,135	0,196666667
<b>Des. estándar</b>	0,001154701	0,001154701	0,002081666	0,00057735	0,001732051	0,002516611
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,041666667	0,003666667	0,014666667	0,050666667	0,093333333	0,155
<b>Coef. variación</b>	0,027712813	0,025471335	0,036952651	0,006252891	0,012830006	0,01279633
<b>Ic50 (µg/ml)</b>	71,408					



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO:</b>	163					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,035	0,039	0,059	0,089	0,131	0,19
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,034	0,038	0,059	0,088	0,139	0,192
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,035	0,039	0,056	0,085	0,137	0,196
<b>Media</b>	0,034666667	0,038666667	0,058	0,087333333	0,135666667	0,192666667
<b>Des. estándar</b>	0,00057735	0,00057735	0,001732051	0,002081666	0,004163332	0,00305505
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,034666667	0,004	0,023333333	0,052666667	0,101	0,158
<b>Coef. variación</b>	0,016654335	0,014931472	0,029862945	0,02383587	0,030687951	0,015856663
<b>Ic50 (µg/ml)</b>	71,4					

<b>CÓDIGO EXTRACTO</b>	172					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,032	0,037	0,043	0,091	0,164	0,216
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,031	0,036	0,046	0,093	0,166	0,215
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,033	0,036	0,043	0,092	0,163	0,219
<b>Media</b>	0,032	0,036333333	0,044	0,092	0,164333333	0,216666667
<b>Des. estándar</b>	0,001	0,00057735	0,001732051	0,001	0,001527525	0,002081666
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,032	0,004333333	0,012	0,06	0,132333333	0,184666667
<b>Coef. variación</b>	0,03125	0,015890374	0,039364791	0,010869565	0,009295285	0,009607689
<b>Ic50 (µg/ml)</b>	55,54					



# UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO</b>	174					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,034	0,037	0,059	0,107	0,164	0,228
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,033	0,038	0,058	0,108	0,164	0,228
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,033	0,038	0,058	0,109	0,166	0,225
<b>Media</b>	0,033333333	0,037666667	0,058333333	0,108	0,164666667	0,227
<b>Des. estándar</b>	0,00057735	0,00057735	0,00057735	0,001	0,001154701	0,001732051
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,033	0,004333333	0,025	0,074666667	0,131333333	0,193666667
<b>Coef. variación</b>	0,017320508	0,015327883	0,009897433	0,009259259	0,007012351	0,00763018
<b>Ic50 (µg/ml)</b>	55,55					

<b>CÓDIGO EXTRACTO</b>	187					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,035	0,045	0,064	0,108	0,134	0,195
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,034	0,047	0,068	0,107	0,134	0,193
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,034	0,046	0,064	0,108	0,133	0,194
<b>Media</b>	0,034333333	0,046	0,065333333	0,107666667	0,133666667	0,194
<b>Des. Estándar</b>	0,000707107	0,001	0,002309401	0,00057735	0,00057735	0,001
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,034333333	0,011666667	0,031	0,073333333	0,099333333	0,159666667
<b>Coef. variación</b>	0,020595343	0,02173913	0,035347976	0,005362386	0,004319329	0,005154639
<b>IC50 (µg/ml)</b>	71,39					



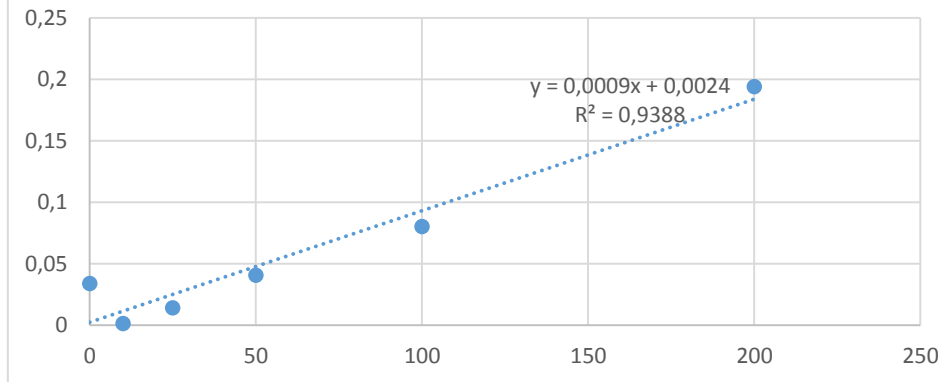
# UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>CÓDIGO EXTRACTO</b>	190					
<b>PARTES DE LA PLANTA:</b>	HOJAS					
	<b>CONTROL</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>X4</b>	<b>X5</b>
<b>Concentración µg/ml</b>	0	10	25	50	100	200
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,033	0,04	0,049	0,072	0,135	0,204
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,032	0,038	0,049	0,072	0,133	0,204
<b>Absorbancia 3(nm)</b>	0,032	0,037	0,044	0,073	0,133	0,204
<b>Media</b>	0,032333333	0,038333333	0,047333333	0,072333333	0,133666667	0,204
<b>Des. Estándar</b>	0,00057735	0,001527525	0,002886751	0,00057735	0,001154701	0
<b>Lecturas corregidas(nm)</b>	0,032333333	0,006	0,015	0,04	0,101333333	0,171666667
<b>Coef. variación</b>	0,017856194	0,039848484	0,060987704	0,007981801	0,008638657	0
<b>Ic50 (µg/ml)</b>	62,48					

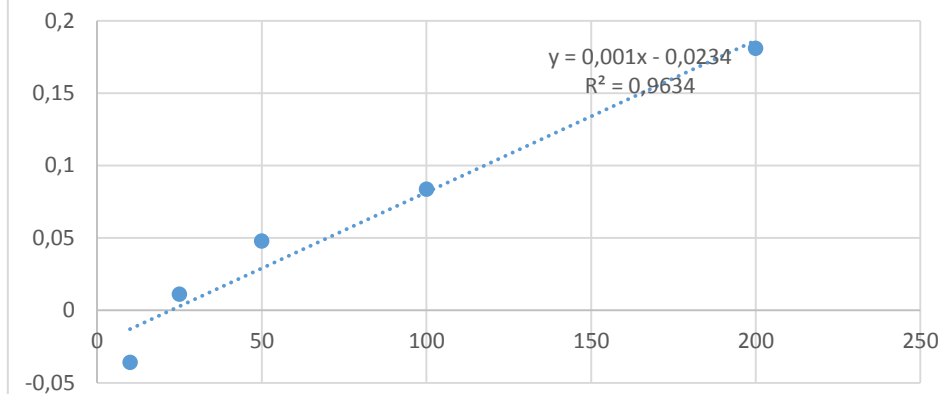


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

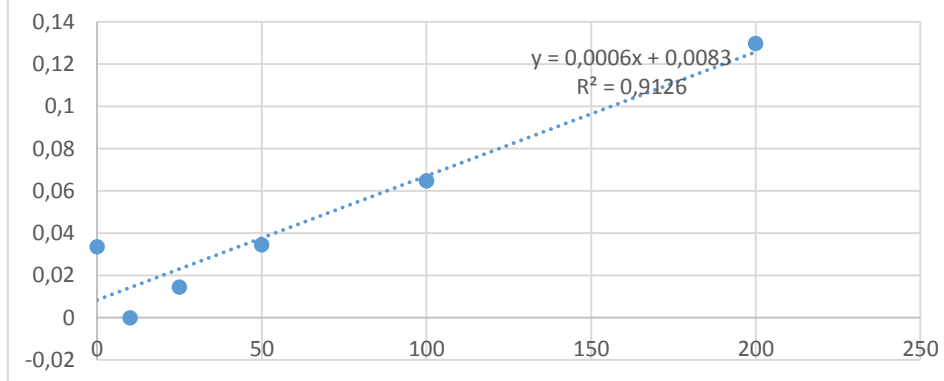
EXTRACTO 2



EXTRACTO 4



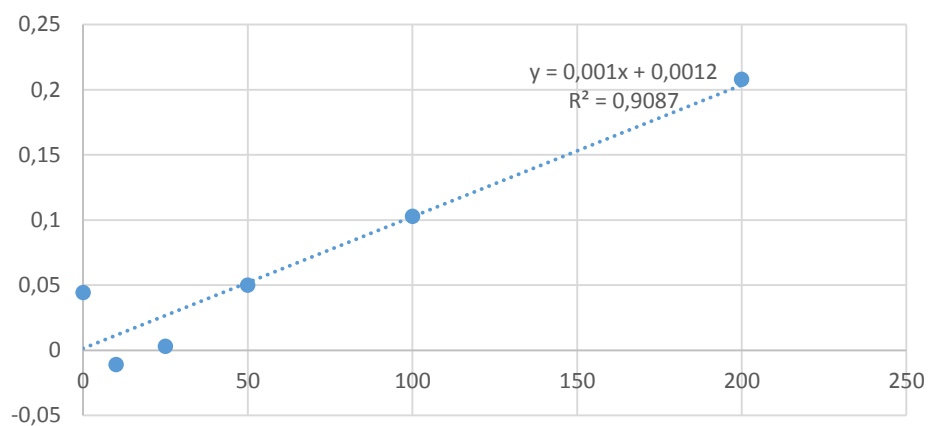
EXTRACTO 113



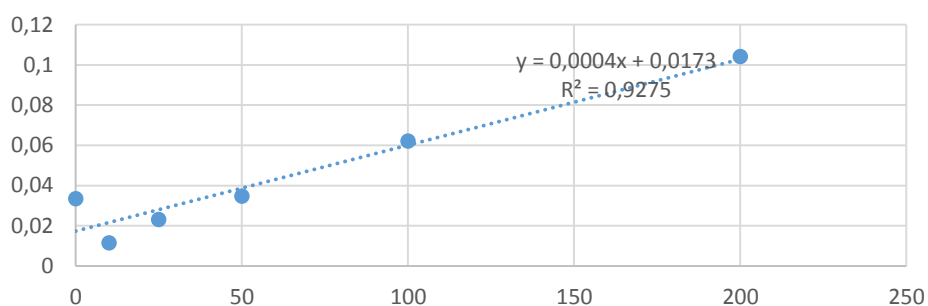


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

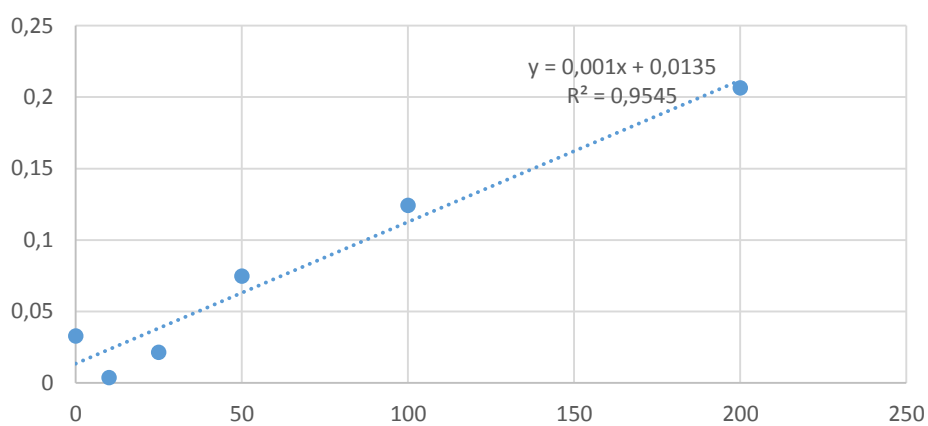
EXTRACTO 126



EXTRACTO 134



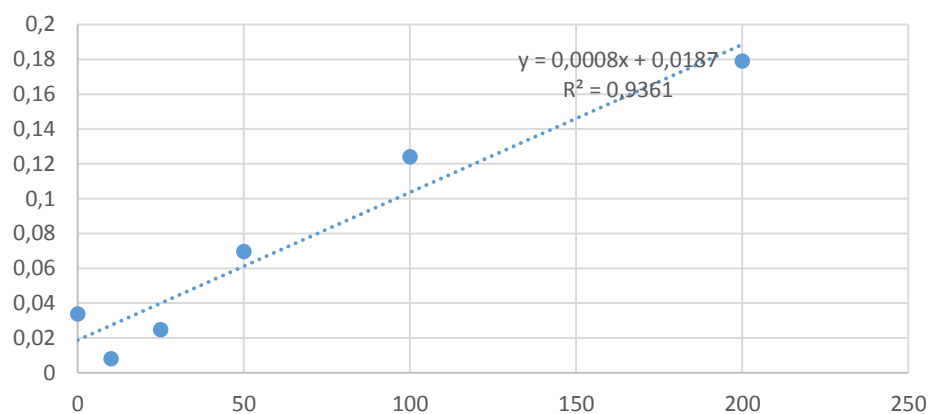
EXTRACTO 136



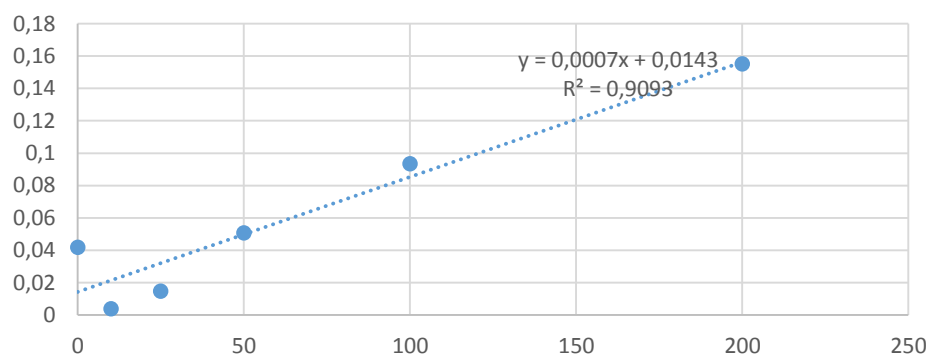


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

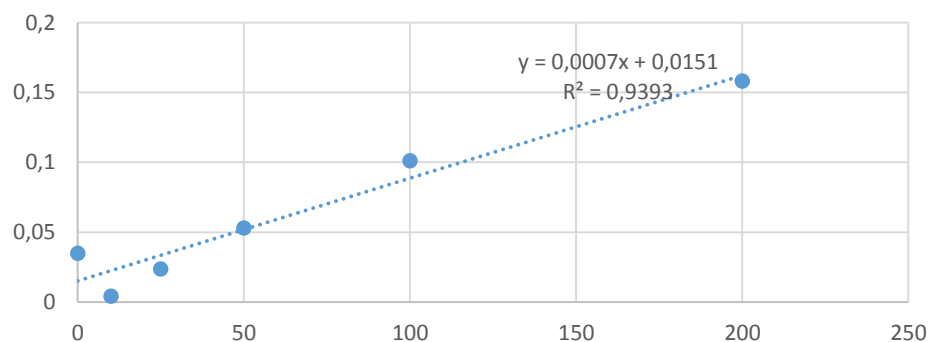
EXTRACTO 141



EXTRACTO 147



EXTRACTO 163

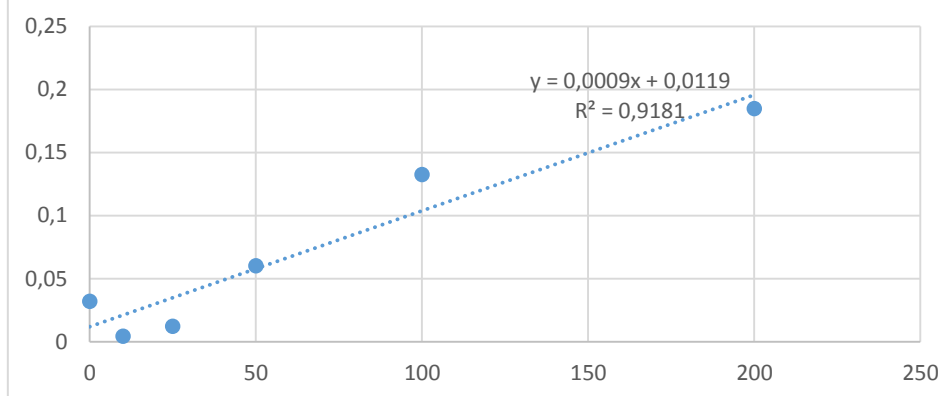




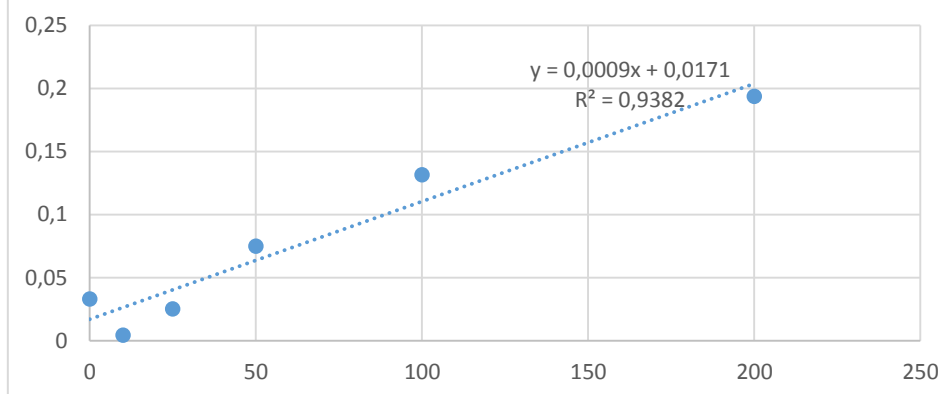


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

EXTRACTO 172



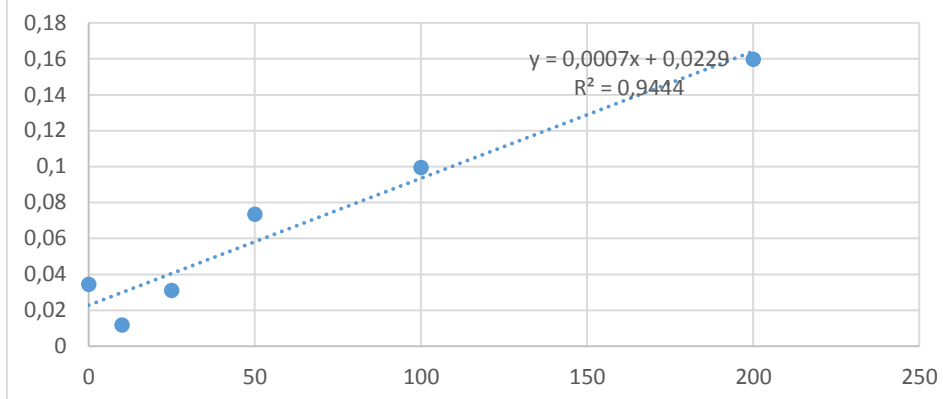
EXTRACTO 174



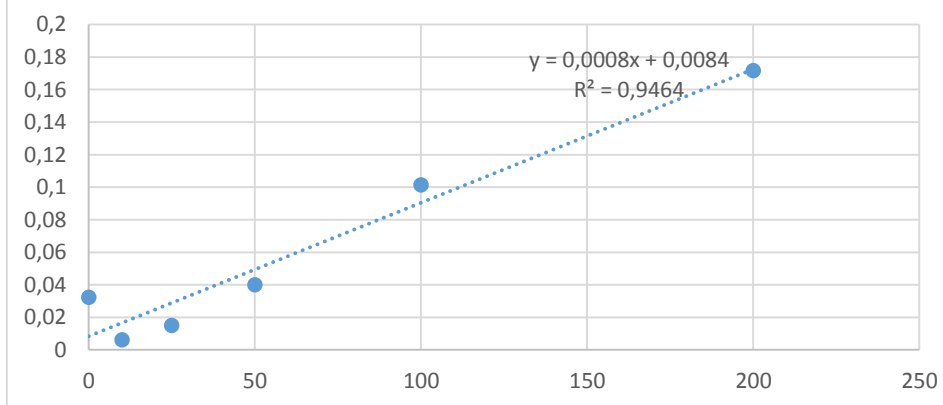


## UNIVERSIDAD DE CUENCA

EXTRACTO 187



EXTRACTO 190





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

### ANEXO H: Resultados de la actividad antioxidante de extractos diclorometano por el método del Poder Reductor.

#### Resultados de compuestos fenólicos de extractos metanólicos de Jungia rugosa Less mediante la técnica Folin Ciolcateau

FECHA	20/11/2015
CÓDIGO	Wilches-2
PARTES DE LA PLANTA	Hojas
Concentración (ug/ml)	2
Absorbancia 1 (nm)	0,028
Absorbancia 2 (nm)	0,026
Absorbancia 3 (nm)	0,026
Media	0,026
Ácidos Fenólicos mg/ml	0,81
Desviación estándar	0,001
Coef. variación	4,44

FECHA	20/11/2015
CÓDIGO	Wilches-4
PARTES DE LA PLANTA	Hojas
Concentración (ug/ml)	2
Absorbancia 1 (nm)	0,039
Absorbancia 2 (nm)	0,035
Absorbancia 3 (nm)	0,031
Media	0,035
Ácidos Fenólicos mg/ml	1,05
Desviación estándar	0,004
Coef. variación	11,42

FECHA	20/10/2015
CÓDIGO	WILCHES -113
PARTE DE LA PLANTA	HOJAS
Concentración (ug/ml)	2
Absorbancia 1(nm)	0,034
Absorbancia 2 (nm)	0,035
Absorbancia 3 (nm)	0,035
Media	0,034
Ácidos Fenólicos mg/ml	1,24
Desviación estándar	0,0005
Coef. variación	1,69

FECHA	20/11/2015
CÓDIGO	Wilches-126
PARTES DE LA PLANTA	Hojas
Concentración (ug/ml)	2
Absorbancia 1 (nm)	0,045
Absorbancia 2(nm)	0,039
Absorbancia 3 (nm)	0,040
Media	0,041
Ácidos Fenólicos mg/ml	1,22
Desviación estándar	0,003
Coef. variación	7,84



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

FECHA	20/10/2015
CÓDIGO	WILCHES -134
PARTE DE LA PLANTA	HOJAS
Concentración µg/ml	2
Absorbancia 1(nm)	0,065
Absorbancia 2 (nm)	0,064
Absorbancia 3 (nm)	0,062
Media	0,063
Ácidos Fenólicos mg/ml	2,36
Desviación estándar	0,001
Coef. variación	2,42

FECHA	20/10/2015
CÓDIGO	WILCHES -136
PARTE DE LA PLANTA	HOJAS
Concentración µg/ml	2
Absorbancia 1(nm)	0,052
Absorbancia 2 (nm)	0,049
Absorbancia 3 (nm)	0,050
Media	0,050
Ácidos Fenólicos mg/ml	1,86
Desviación estándar	0,001
Coef. variación	3,05

FECHA	20/10/2015
CÓDIGO	WILCHES -141
PARTE DE LA PLANTA	HOJAS
Concentración µg/ml	2
Absorbancia 1(nm)	0,031
Absorbancia 2 (nm)	0,029
Absorbancia 3 (nm)	0,030
Media	0,03
Ácidos Fenólicos mg/ml	1,09
Desviación estándar	0,001
Coef. variación	3,33

FECHA	20/10/2015
CÓDIGO	WILCHES -147
PARTE DE LA PLANTA	HOJAS
Concentración µg/ml	2
Absorbancia 1(nm)	0,053
Absorbancia 2 (nm)	0,056
Absorbancia 3 (nm)	0,055
Media	0,054
Ácidos Fenólicos mg/ml	2,01
Desviación estándar	0,001
Coef. variación	2,82



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>FECHA</b>	20/11/2015
<b>CÓDIGO</b>	Wilches-163
<b>PARTES DE LA PLANTA</b>	Hojas
<b>Concentración (ug/ml)</b>	2
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,041
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,039
<b>Absorbancia 3 (nm)</b>	0,040
<b>Media</b>	0,04
<b>Ácidos Fenólicos mg/ml</b>	1,19
<b>Desviación estándar</b>	0,001
<b>Coef. variación</b>	2,5

<b>FECHA</b>	20/10/2015
<b>CÓDIGO</b>	WILCHES -172
<b>PARTE DE LA PLANTA</b>	HOJAS
<b>Concentración (ug/ml)</b>	2
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,072
<b>Absorbancia 2 (nm)</b>	0,071
<b>Absorbancia 3 (nm)</b>	0,070
<b>Media</b>	0,071
<b>Ácidos Fenólicos mg/ml</b>	2,67
<b>Desviación estándar</b>	0,001
<b>Coef. variación</b>	1,40

<b>FECHA</b>	20/11/2015
<b>CÓDIGO</b>	Wilches-174
<b>PARTES DE LA PLANTA</b>	Hojas
<b>Concentración (ug/ml)</b>	2
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,117
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,120
<b>Absorbancia 3 (nm)</b>	0,125
<b>Media</b>	0,120
<b>Ácidos Fenólicos mg/ml</b>	3,39
<b>Desviación estándar</b>	0,004
<b>Coef. variación</b>	3,36

<b>FECHA</b>	20/11/2015
<b>CÓDIGO</b>	Wilches-187
<b>PARTES DE LA PLANTA</b>	Hojas
<b>Concentración (ug/ml)</b>	2
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,025
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,030
<b>Absorbancia 3 (nm)</b>	0,028
<b>Media</b>	0,027
<b>Ácidos Fenólicos mg/ml</b>	0,85
<b>Desviación estándar</b>	0,002
<b>Coef. variación</b>	9,32



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

<b>FECHA</b>	20/11/2015
<b>CÓDIGO</b>	Wilches-190
<b>PARTES DE LA PLANTA</b>	Hojas
<b>Concentración (ug/ml)</b>	2
<b>Absorbancia 1(nm)</b>	0,032
<b>Absorbancia 2(nm)</b>	0,030
<b>Absorbancia 3 (nm)</b>	0,035
<b>Media</b>	0,032
<b>Ácidos Fenólicos mg/ml</b>	0,98
<b>Desviación estándar</b>	0,002
<b>Coef. variación</b>	7,86



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

**ANEXO I: Resultados de compuestos fenólicos totales de extractos metanólicos  
mediante la técnica de Folin Ciolcateau.**